

CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA
INTERNA E ASPECTOS DA AUTO-ECOLOGIA DE UMA
POPULAÇÃO NATURAL DE IMBUIA
(*Ocotea porosa* - Lauraceae)

Ricardo Bittencourt

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Santa
Catarina como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do
título de Mestre em Ciências, área
de concentração: Recursos
Genéticos Vegetais.

Florianópolis

Estado de Santa Catarina – Brasil
Fevereiro de 2007

CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA
INTERNA E ASPECTOS DA AUTO-ECOLOGIA DE UMA
POPULAÇÃO NATURAL DE IMBUIA
(*Ocotea porosa* - Lauraceae)

Ricardo Bittencourt

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis
Co-Orientador: Prof. Dr. Adelar Mantovani

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Santa
Catarina como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do
título de Mestre em Ciências, área
de concentração: Recursos
Genéticos Vegetais.

Florianópolis

Estado de Santa Catarina – Brasil
Fevereiro de 2007

Aos meus pais, Elias e Inês Bittencourt

Agradecimentos

Agradeço a todos que, de alguma forma, auxiliaram-me na execução deste trabalho. Em especial:

Ao Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis, pela orientação neste trabalho, pela dedicação despendida à minha formação profissional e pessoal e pela amizade;

Ao Prof. Dr. Adelar Mantovani, pela orientação, pela incansável disposição, pelo incentivo dado durante a realização do trabalho e pela amizade;

Ao Eng. Agrônomo M.Sc. Alexandre Mariot, por toda a ajuda no trabalho de campo, na discussão e pelo companheirismo nas viagens;

Aos meus pais e irmãs, pelo amor, confiança e apoio em todos os momentos;

À Cristina Silva Sant’Anna, minha namorada, pela contribuição no trabalho e principalmente pelo carinho e incentivo;

Ao pessoal do NPFT, Diogo, Andréa, Cris, Mariot, Ruschel, Siminski, Juliano e Camila, pela cooperação e auxílio no campo, no laboratório e nas discussões;

Ao Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais (NPFT) e ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) pela infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento deste trabalho;

Aos meus amigos, principalmente ao Felipe do Nascimento Vieira, Diogo Klock Ferreira, Celso Buglione Neto, Delano Dias Schleder pela amizade e pelo apoio;

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) por disponibilizar a área para a realização do trabalho e pelo apoio

À CAPES pela concessão da bolsa e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Índice

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO:	vii
ABSTRACT:	viii
1- INTRODUÇÃO	8
2- OBJETIVOS	10
2.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1- A ESPÉCIE	11
3.2- DIVERSIDADE GENÉTICA E CONSERVAÇÃO	13
3.3- ESTRUTURA POPULACIONAL	17
3.4- FENOLOGIA	19
4- METODOLOGIA	21
4.1- ÁREA DE ESTUDO	21
4.2- DEMOGRAFIA	22
4.2.1- Adultas	22
4.2.2- Jovens	22
4.2- DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL	23
4.3- DIVERSIDADE GENÉTICA	25
4.3.1- Coleta (Amostragem)	25
4.3.2- Preparo do Gel	26
4.3.3- Extração	27
4.3.4- Carregamento do gel	27
4.3.5- Corrida Eletroforética	28
4.3.6- Corte do Gel	28
4.3.7- Coloração	29
4.3.8- Interpretação dos Zimogramas	30
4.3.9- Análise dos Dados	30
4.4- AUTOCORRELAÇÃO ESPACIAL	33
4.5- FENOLOGIA REPRODUTIVA	34
4.6- OBSERVAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS	35
5- RESULTADOS	35
5.1- DEMOGRAFIA	35
5.1.1- Adultas	35
5.1.2- Jovens	37
5.2- DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL	40
5.3- DIVERSIDADE GENÉTICA	44
5.4- ANÁLISE DE AUTOCORRELAÇÃO ESPACIAL	48
5.5- FENOLOGIA REPRODUTIVA	49
5.6- OBSERVAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS	51
6- DISCUSSÃO	52
6.1- DEMOGRAFIA	52
6.1.1- Adultas	52
6.1.2- Jovens	56
6.2- DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL	59
6.3- AUTOCORRELAÇÃO ESPACIAL	60
6.4- FENOLOGIA REPRODUTIVA	63
6.5- DIVERSIDADE GENÉTICA	66
7- IMPLICAÇÕES PARA A CONSERVAÇÃO	71

8- CONCLUSÕES.....	74
9- REFERÊNCIAS.....	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição de frequência em classes diamétricas para indivíduos reprodutivos em uma área de 5,1 ha de uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	37
Figura 2 - Distribuição de frequência média por hectare em classes de altura e respectivos erros padrões da média para indivíduos jovens em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.....	39
Figura 3 - Distribuição de frequência média por hectare percentual em classes de altura e respectivos erros padrões da média para indivíduos jovens em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.....	39
Figura 4 - Distribuição espacial dos indivíduos reprodutivos na Parcela de 5,1 ha em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador e localização das parcelas de avaliação dos indivíduos jovens, NPFT- RGV – UFSC, 2007.....	41
Figura 5 – Distribuição espacial de indivíduos jovens de <i>O. porosa</i> na Parcela A na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	43
Figura 6 - Distribuição espacial de indivíduos jovens de <i>O. porosa</i> na Parcela B na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	43
Figura 7 - Distribuição espacial de indivíduos jovens de <i>O. porosa</i> na Parcela C na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	44
Figura 9- Distribuição de frequência em classes de altura e diamétricas, respectivamente para indivíduos jovens e reprodutivos por hectare de uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistemas enzimáticos, código e sigla das enzimas e classes de indivíduos a qual foram empregados. NPFT- RGV – UFSC, 2007	29
Tabela 2 - Distribuição de frequência em classes diamétricas para indivíduos reprodutivos em uma área de 5,1 ha de uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	36
Tabela 3 - Distribuição de frequência média por hectare em classes de altura para indivíduos jovens em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.....	38
Tabela 4 - Frequências alélicas em 14 locos enzimáticos de indivíduos jovens e adultos em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	45
Tabela 5 - Tamanho da amostra (n), porcentagem de locos polimórficos (P), número de alelos por loco (A), número de alelos por loco polimórfico (AP), diversidade genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (f) para indivíduos jovens e adultos em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	46
Tabela 6 - Tamanho da amostra (n), diversidade genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (F) para todos os locos de indivíduos adultos em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	47
Tabela 7 - Tamanho da amostra (n), diversidade genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (F) para todos os locos de indivíduos jovens em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	47
Tabela 8 – Diversidade Genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (F) para os locos polimórficos comuns entre indivíduos jovens e adultos em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	47
Tabela 9 – Tabela de correlação intervalos de confiança para 8 locos analisados em 12 classes de distâncias e intervalos de confiança em uma população de <i>O. porosa</i> na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.	48

RESUMO:

A *Ocotea porosa* (Nees et Martius ex Nees) Angely (Lauraceae), conhecida popularmente como imbuia, é a espécie arbórea símbolo do estado de Santa Catarina, (Lei Estadual n.4.984/1983). É uma árvore que comumente atinge 15 a 20 metros de altura com diâmetro a altura do peito (DAP) entre 50 a 150 cm. Ocorre em áreas de tipologia florestal típica da Floresta Ombrófila Mista (FOM). Pela sua durabilidade e pela beleza de sua madeira foi uma das espécies mais procuradas pela indústria, principalmente para a fabricação de móveis finos. Devido a essa intensa procura e à drástica redução da área da FOM, a imbuia passou a constar da Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (Resolução 37/IBAMA/1993), na categoria Vulnerável. Assim, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar aspectos da autoecologia de uma população de *Ocotea porosa* no Planalto Norte do Estado de Santa Catarina, visando gerar informações para definição de estratégias efetivas de conservação da espécie. Para isso foi utilizada uma parcela de 5,1 ha na Reserva Genética Florestal de Caçador (Caçador-SC). Foi realizado um levantamento demográfico dos indivíduos adultos em toda a área da parcela e dos indivíduos jovens em três subparcelas de 50 m x 50 m. Foram coletadas amostras foliares de todos os indivíduos adultos presentes na área e de todos os indivíduos jovens presentes em uma das sub-parcelas, visando a caracterização genética (14 locos alozímicos) dos mesmos. Durante 15 meses foi realizada a caracterização da fenologia reprodutiva da espécie, baseada na observação de 36 indivíduos. Em relação à demografia, a espécie apresentou um padrão de distribuição em “J-invertido” para os indivíduos até cerca de 2,5 m e uma distribuição tendendo a normal para os indivíduos adultos, sendo observada uma descontinuidade na regeneração. O padrão de distribuição espacial da espécie tende a ser agregado, principalmente quando os indivíduos são jovens, o que pode ser decorrência de dispersão restrita. Também em decorrência de dispersão restrita e polinização a curta distância a espécie apresentou autocorrelação genética espacial positiva a curtas distâncias, indicando estruturação familiar. Os indivíduos de *O. porosa* presentes na parcela apresentaram altos índices de diversidade e elevada endogamia. A espécie aparentemente apresenta autocompatibilidade, o que, aliado a estrutura familiar, ajuda a explicar os altos índices de endogamia. Para a efetiva conservação de populações de *O. porosa* são necessárias áreas grandes capazes de comportar várias demes, populações de vetores de fluxo gênico e apresentar vários micro-ambientes, necessários ao recrutamento de indivíduos jovens de *O. porosa*.

ABSTRACT:

Ocotea porosa (Nees et Martius ex Nees) Angely (Lauraceae), popularly known as imbuia, is the symbol tree of Santa Catarina State (State Law n.4.984/1983). This tree commonly reaches 20 meters height, and a DBH between 50 and 150 centimeters. Occurs in the Mixed Ombrophilous Forest (MOF) forest typology. Due to its wood durability, it was one of the most exploited, mainly by furniture industry. Due to the high level of exploitation and the drastic reduction of the MOF area, *O. porosa* is now on the Official List of Brazilian Flora Threatened by Extinction. (Resolution 37/IBAMA/1993), in the Vulnerable category. Thus, the objective of this study was to characterize auto-ecology aspects of an *Ocotea porosa* natural population, aiming to generate information to guide effective conservation strategies for the species. To perform this, studies were carried out in a 5,1 ha plot in the Reserva Genética Florestal de Caçador (Caçador-SC). A demographic survey of the mature individuals was made all over the plot area while the young individuals were surveyed only in three 50 x 50 m plots. Leaf samples were collected from every mature individual of the larger plot and from every young individuals of one of the 50 x50 m plots to perform the plants genetic characterization (14 loci). Thirty six mature individuals were observed, during 15 months, to characterize the reproductive phenology of the species. In relation to the demographic structure, the species presented a distribution pattern similar to an “inverted-J” for the young individuals and a distribution tending to a normal-distribution for the mature ones. The species shows an aggregated spatial distribution pattern, mainly by the younger individuals, what could be associated with a restricted dispersion. Also due to its restricted dispersion and short distance of pollination, the species presented a positive spatial genetic structure on short distances. The *O. porosa* individuals presented high levels of genetic diversity and high endogamy. Apparently, the species presents auto-compatibility, which, together with the familiar structure, helps to explain the high endogamy levels. For the effective conservation of *O. porosa*, wide areas bearing a minimum number of deme, populations of gene flow vectors and which presents sufficient number of micro-habitats necessities to the recruitment of young individuals of the species are indispensable.

1- INTRODUÇÃO

Apesar do crescente interesse sobre a perda de florestas tropicais e dos esforços locais e internacionais para achar soluções para este problema, a taxa de desmatamento nos trópicos continua a aumentar (Bawa & Seidler, 1998). No caso do Brasil, que possui a mais rica flora, com mais de 56.000 espécies sendo um dos países com maior megadiversidade do Mundo, o status de conservação da Floresta Tropical Atlântica é preocupante (Giulietti *et al.*, 2005, Mittermeier *et al.*, 2005).

A Floresta Tropical Atlântica é um dos mais ameaçados biomas do planeta, sendo um dos 25 Hotspots de biodiversidade do mundo. Apesar de ter grande parte de seus habitats drasticamente reduzidos, restando cerca de 7% da sua cobertura florestal original, a Floresta Tropical Atlântica ainda abriga mais de 8000 espécies endêmicas de plantas vasculares, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos (Myers *et al.*, 2000).

O Estado de Santa Catarina era originalmente coberto pela Mata Atlântica. Dentro deste bioma, a Floresta Ombrófila Mista que atingia 42,5% do território estadual, hoje não ultrapassa 5% da sua cobertura original, da qual se estima que somente 0,7% poderia ser considerada como primitiva, mantendo a sua integridade ecológica (Guerra *et al.*, 2002). Esse quadro de ameaça deve-se principalmente à forte pressão que as florestas tropicais têm sofrido em sua estrutura e composição devido ao processo de extrativismo e a substituição da cobertura vegetal original por áreas agrícolas e urbanizadas (Reis *et al.*, 1992, Fundação SOS Mata Atlântica, 1998).

Neste contexto, é premente de conservação e recuperação dos fragmentos do que resta da Floresta Tropical Atlântica, em especial da Floresta Ombrófila Mista; para tanto é imprescindível que conceitos teóricos básicos dos ecossistemas tropicais sejam

invocados, visando a construção de tecnologias adequadas para essas ações (Kageyama *et al*, 1998).

Porém, o atual conhecimento sobre as espécies da Mata Atlântica e sua autocolônia é ainda insuficiente, principalmente quanto à estruturação genética populacional de suas espécies e procedimentos adequados de amostragem para fins conservacionistas e de manejo (Moraes *et al.*, 1999). Reis (1996) aponta a necessidade de um maior número de estudos que caracterizem os eventos relacionados à movimentação dos alelos (níveis de diversidade, estrutura genética, sistema reprodutivo, taxa de cruzamento, fluxo gênico, etc.) em populações naturais, bem como os vetores envolvidos e sua ação. Do mesmo modo, a integração dos fatores ligados à estrutura genética e às dinâmicas ecológicas e evolutivas é de fundamental importância na tentativa de definir estratégias efetivas de conservação a fim de garantir a sobrevivência de espécies e populações em longo prazo. (Clarke & Young , 2000, Thrall, Burdon & Murray, 2000).

No caso das florestas tropicais, onde há alta diversidade de espécies, é praticamente impossível estudar todas do ponto de vista genético. Levando-se isso em consideração, a escolha das espécies a serem estudadas passa a ter cada vez mais importância. Desse modo, deve-se levar em conta para a seleção das espécies, aquelas com alta prioridade, como a *O. porosa* por figurar da lista oficial das espécies ameaçadas de extinção, e/ou espécies-modelo que podem representar parte da comunidade de espécies arbóreas tropicais e os seus resultados possam ser extrapolados para espécies com características semelhantes (Kageyama *et al.* 2003, Kjær & Graudal, 2000).

Diante disso, o presente trabalho buscou caracterizar aspectos da auto-ecologia assim como o padrão de distribuição espacial da diversidade genética dentro de uma

população de *Ocotea porosa*. As informações geradas trazem elementos importantes que devem ser utilizados para a definição de estratégias de conservação, a fim de garantir a continuidade do processo evolutivo das populações da espécie em longo prazo.

2- OBJETIVOS

Caracterizar aspectos da auto-ecologia de uma população natural de *Ocotea porosa* no Planalto Norte do Estado de Santa Catarina, visando gerar informações para definição de estratégias efetivas de conservação da espécie.

2.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar a estrutura demográfica de indivíduos jovens e adultos de *O. porosa*;

Caracterizar a distribuição espacial de indivíduos jovens e adultos de uma população natural de *O. porosa*;

Quantificar a diversidade genética dos indivíduos jovens e adultos de uma população natural de *O. porosa*;

Caracterizar a estrutura genética interna de uma população natural de *O. porosa*;

Caracterizar os eventos de fenologia reprodutiva de uma população natural de *O. porosa*.

3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1- A ESPÉCIE

A *Ocotea porosa* (Nees et Martius ex Nees) Angely (Lauraceae), conhecida popularmente como imbuia, é a espécie arbórea símbolo do estado de Santa Catarina, assim reconhecida pela Lei Estadual n.4.984, de 07/12/1983. É uma árvore que comumente atinge 15 a 20 metros de altura com diâmetro a altura do peito (DAP) entre 50 a 150 cm (Reitz *et al.*, 1978), podendo atingir 320 cm ou mais de DAP (Carvalho, 1994). Segundo Inoue *et al.* (1984), a espécie apresenta troncos geralmente grossos e inclinados com ramificação pesada a baixa altura (entre 3 e 6 metros), formando copa ampla e alta, ocupando o dossel superior da floresta. Sua folhagem é pouco densa, apresentando coloração verde-clara muito característica. As folhas são simples, alternas, inteiras e oblongo-lanceoladas, comumente medindo 6 – 10 cm de comprimento por 1,5 – 2 cm de largura.

Possui inflorescências em racemos simples ou subracemosos, com 2 -4 cm. As flores são hermafroditas, amareladas e pequenas, florescendo no Estado de Santa Catarina principalmente durante os meses de outubro a dezembro (Reitz *et al.*, 1978). No Estado do Paraná o florescimento ocorre principalmente entre outubro e novembro e a ocorrência de frutos maduros a partir de fevereiro. Os frutos gerados são do tipo baga globosa de 13 a 17 mm de diâmetro com superfície parda e alveolada (Reitz *et al.*, 1978). Segundo Carvalho (1994) é, possivelmente, a espécie mais longeva da “mata de araucária”, podendo ultrapassar os 500 anos.

Ocorre do Estado de São Paulo ao Rio Grande do Sul (Rizzini, 1971), em áreas de tipologia florestal típica da Floresta Ombrófila Mista. Apresenta uma frequência bem elevada em virtude de sua distribuição bastante uniforme através das diversas condições climáticas. Nas sub-matas dos pinhais constitui a árvore mais abundante, tendo sido encontradas comumente 6 a 20 imbuías bem desenvolvidas por hectare (Reitz *et al.*, 1978). Inoue *et al.* (1984) classificaram a imbuía como a segunda espécie em volume de madeira explorada em função da grande quantidade existente e dos grandes diâmetros dos seus troncos. Estes mesmos autores relataram a ocorrência de grande frequência de tocos carbonizados em campos e capoeiras abandonados, cuja madeira não foi aproveitada, sendo criminosamente queimados após a derrubada da floresta, tal era a abundância das imbuías.

A espécie possui intensa regeneração natural no interior da floresta, justificada pela sua abundante frutificação. As mudas novas desenvolvem-se satisfatoriamente no ambiente pouco iluminado, porém, são poucos os indivíduos que sobrevivem, pois é raro encontrar indivíduos maiores (acima de 1 metro), o que indica uma possível mudança de comportamento com relação à luminosidade (Inoue *et al.*, 1984).

A madeira proveniente da imbuía é moderadamente pesada, de coloração muito variável, indo do pardo-claro-amarelo ao pardo-escuro-avermelhado, geralmente com veios paralelos finos de manchas escuras ou ainda onduladas. Sua superfície é irregularmente lustrosa e lisa. Possui odor característico, resinoso e agradável e sua durabilidade natural é alta (Reitz *et al.*, 1978).

Pela sua durabilidade e sobretudo pela beleza de sua madeira foi, depois do pinheiro-do-paraná, a espécie mais procurada e transformada pela indústria, principalmente para a fabricação de móveis finos e de luxo (Backes & Irgang, 2002).

Devido a abundância de indivíduos de grandes dimensões era muito empregada na construção civil, em pontes, dormentes, assoalhos e móveis rústicos (Inoue *et al.*, 1984).

Devido à essa procura e à intensa exploração predatória, a imbuia consta da Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (Resolução 37/IBAMA/1993), na categoria Vulnerável. Incluem-se nessa categoria, espécies cujas populações encontram-se em declínio em consequência de exploração excessiva ou de destruição dos habitats e espécies cujas populações tenham sido seriamente reduzidas (Filho *et al.*, 1992).

3.2- DIVERSIDADE GENÉTICA E CONSERVAÇÃO

Uma das principais metas nos programas de conservação, adicionalmente à preservação de habitats, é a manutenção dos níveis existentes de diversidade genética em espécies raras, ameaçadas ou que estão inseridas em biomas ameaçados (Hamrick *et al.* 1992, Neel & Ellstrand, 2003). O potencial de responder às mudanças ambientais apresentado pelas espécies é dependente da existência de variabilidade genética. Para fins de conservação de espécies que se encontram inseridas em biomas que devem ser conservados, como a *O. porosa*, os parâmetros genéticos populacionais podem ser úteis na detecção de populações que apresentem diferentes magnitudes de variabilidade genética, e que, desse modo, requerem diferentes estratégias para sua conservação, seja ela *in situ* ou *ex situ* (Newton *et al.*, 1999). Ao idealizar um programa de conservação consistentemente auspicioso para espécies vegetais, tornam-se essenciais estudos detalhados da estrutura genética populacional assim como dos fatores evolutivos que iniciaram e mantêm essa estrutura (Hamrick *et al.* 1992).

Reis (1996) aponta que a caracterização dos níveis de variabilidade e estruturação genética, assim como o entendimento da dinâmica da movimentação dos

alelos nas populações naturais, é fundamental para trazer subsídios para a conservação de populações naturais. O entendimento do modo como a variabilidade genética está organizada entre as populações é de importância primária para a conservação da diversidade genética e conseqüentemente do potencial evolutivo das espécies (Hamrick & Godt, 1989).

Muitos estudos vêm sendo realizados sobre a variabilidade e a estruturação genética de espécies arbóreas tropicais com o uso da eletroforese de isoenzimas. Hamrick & Godt (1989), em uma revisão da diversidade alozímica em espécies vegetais, constataram que espécies da zona temperada-tropical apresentam aproximadamente 59% de locos polimórficos, 2,53 alelos por loco e que a diversidade genética média está em torno de 0,170. Ainda, segundo Hamrick & Godt (1989), espécies arbóreas com longo ciclo de vida, apresentam em média 64,7% de locos polimórficos, 2,19 alelos por loco, e diversidade genética de 0,177.

A família Lauraceae engloba várias espécies que vêm sendo alvo de estudos genéticos, entre elas estão a *Cryptocarya moschata* (Moraes *et al.*, 1999), *C. aschersoniana* (Moraes & Derbyshire, 2002), *O. odorifera* (Kageyama *et al.*, 2003), *O. catharinensis* (Tarazi, 2006), entre outras, incluindo a *O. porosa* (Bittencourt *et al.*, em preparação).

Em um trabalho de caracterização da diversidade genética populações de *O. porosa* no Estado de Santa Catarina, Bittencourt *et al.* (em preparação) obtiveram altos índices de diversidade genética ($H_e = 0,250$) para a espécie em comparação à média das espécies arbóreas tropicais. Neste trabalho foram caracterizadas seis populações, sendo uma delas presente no mesmo local (Reserva Genética Florestal de Caçador) que o presente trabalho. A amostragem no trabalho em questão foi feita respeitando uma distância mínima de 50 m entre plantas no intuito de amostrar o máximo possível de

variabilidade. Das seis populações estudadas, quatro apresentaram altos índices de endogamia, com o F chegando a quase 0,40 em uma delas. Nas outras duas populações, onde está incluída a população da Reserva Genética Florestal de Caçador, os índices de endogamia foram negativos ($F = -0,05$), porém não diferentes de zero. A divergência genética entre as seis populações também foi alta ($F_{ST} = 0,172$), além de cinco populações apresentarem alelos exclusivos.

Contudo, além da distribuição da diversidade entre as populações, o modo como a variação genética está distribuída no espaço dentro de uma população também apresenta grande importância para o entendimento de muitos processos genéticos nas populações, incluindo o nível de endogamia biparental da mesma (Epperson, 2004). Além disso, muitos desses processos interagem com características demográficas. Primeiramente, em muitas populações de plantas, vários processos genéticos influenciam e são influenciados pela estrutura espacial. Assim, modelos teóricos de genética de populações que incluem o contexto espacial são importantes no entendimento de aspectos de ecologia genética e evolutivos. Segundo, devido ao fato que as distribuições espaciais são muitas vezes alteradas distintamente pelos vários fatores evolutivos, pode-se usar os padrões espaciais para quantificar diferentes fatores evolutivos, incluindo meios de obter medidas indiretas de fluxo gênico e dispersão (Epperson, 2000).

Kageyama *et al.*, (2003) realizaram um estudo da diversidade e autocorrelação genética espacial em duas populações da espécie congênere, *O. odorifera*, situadas no Estado de São Paulo. O trabalho foi realizado em dois fragmentos florestais, sendo um com 30 ha e o outro com 166 ha. Foram detectados baixos níveis de divergência genética entre as duas populações ($F_{ST} = 0,028$), assim como altos índices de diversidade genética intrapopulacional ($H_e = 0,360$). Segundo os autores, a magnitude dos índices de

diversidade e de fixação observados para a espécie são característicos de espécies alógamas ou com sistema de cruzamento misto com predominância de alogamia. Contudo, a população presente no fragmento pequeno mostrou tendência à aleatoriedade na distribuição espacial dos genótipos, enquanto que a população presente no fragmento maior apresentou indícios de estruturação genética espacial para distâncias pequenas.

A espécie congênere *O. catharinensis* também teve sua estrutura genética interna caracterizada. Os resultados obtidos por Tarazi (2006), avaliando quatro populações de *O. catharinensis*, evidenciaram a existência de estrutura genética interna nas quatro populações para as primeiras classes de distância, indicando uma distribuição não-aleatória da variabilidade genética.

Analizando a estrutura genética intrapopulacional em *Cryptocarya moschata*, outra espécie de Lauraceae, Moraes, Monteiro & Vencovsky (2004) detectaram estruturação espacial significativa para os indivíduos distantes até 150 m entre si. A polinização por pequenos insetos, provavelmente moscas e pequenas abelhas, promovendo um fluxo de pólen a curtas distâncias, adicionalmente ao sistema de cruzamento misto da espécie, é levantada como uma hipótese para explicar essa similaridade genética entre os indivíduos próximos geograficamente.

Frente a isto, percebe-se que o conhecimento sobre a estrutura espacial populacional torna-se essencial no estabelecimento de estratégias adequadas de amostragem de populações naturais, conseguindo-se assim, segundo Epperson (1989), maximizar o entendimento sobre a diversidade da população ou da espécie.

Além disso, para a análise da estrutura de populações é fundamental a junção de conceitos de ecologia e genética de populações de forma a orientar as ações a serem efetuadas e definir parâmetros adequados para o monitoramento das mesmas

(Kageyama *et al.*, 1998). Nesse sentido, Oyama (1993) já chamava a atenção de que ações efetivas de conservação de florestas tropicais são limitadas; segundo o autor dois aspectos básicos da biologia populacional devem ser estudados para fundamentar essas ações, sendo eles a estrutura demografia e a estrutura genética, para que sejam minimizados os prejuízos causados pela destruição e fragmentação das populações naturais, que tem levado à extinção de espécies.

3.3- ESTRUTURA POPULACIONAL

Os estudos demográficos envolvem a análise dos diferentes estágios do ciclo de vida de uma espécie buscando esclarecer os seus padrões de mortalidade, crescimento e reprodução (Oyama, 1993). A análise da estrutura demográfica permite desvendar os fenômenos dependentes da densidade de plantas, como a interação com patógenos, mortalidade, competição e sucessão, dentro da dinâmica da comunidade vegetal (Gilbert, 2002).

Caldato, Longhi & Floss (1999) estudaram a estrutura populacional de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador e observaram um padrão de crescimento em “J-invertido” para os indivíduos jovens e distribuição de frequências em classes de diâmetro tendendo a um padrão normal para os indivíduos adultos. Os autores utilizaram 8 parcelas de 1 ha, e consideraram como adultas as plantas com DAP superior a 10 cm e jovens as plantas menores que 2 m de altura.

Vários trabalhos sobre fitossociologia na Floresta Ombrófila Mista também apresentam dados demográficos sobre a *O. porosa* (Sanquetta *et al.*, 2001; Formento, Schorn & Ramos, 2004; Schaaf *et al.*, 2006; Canalez, Dalla Corte & Sanquetta, 2006).

Estudando a dinâmica estrutural arbórea de uma área de Floresta Ombrófila Mista em Santa Catarina, Formento, Schorn & Ramos (2004) observaram um aumento de 1,0 indivíduo/ha de *O. porosa* em 1992 para 13 indivíduos/ha em 2003 em uma área onde houve extração seletiva de árvores em décadas passadas.

Schaaf *et al.* (2006), em um trabalho sobre a alteração na estrutura diamétrica de uma Floresta Ombrófila Mista relatam que a *O. porosa* que em 1979 contava com 81 indivíduos distribuídos ao longo de todas as classes diamétricas, com relativamente poucos indivíduos nas classes inferiores, não apenas manteve, como aumentou sua densidade absoluta para 83 indivíduos, em 2000. Além disso, a espécie acompanhou o amadurecimento da floresta, aumentando o número de indivíduos nas classes diamétricas superiores. Em 1979, 28,40% dos indivíduos possuíam DAP maior que 50 cm e em 2000, 42,17% encontravam-se na mesma posição dentro da distribuição diamétrica.

A dinâmica da estrutura horizontal de um fragmento florestal com *Araucaria angustifolia* na região Centro-Sul do Paraná foi avaliada por Sanquetta *et al.* (2001). O estudo foi baseado em parcelas amostrais permanentes, totalizando 3,5 ha, instaladas na Estação Experimental de São João do Triunfo, Estado do Paraná, com área florestada de 32 ha. Foram analisados os índices densidade, dominância e frequência durante o período entre os anos de 1995 e 1998. A *O. porosa* encontrou-se representada por 9 e 8 ind./ha em 1995 e 1998. Porém, a espécie, que contou com apenas 1,59% e 1,36% dos indivíduos em relação à densidade total em 1995 e 1998, segundo os mesmos autores, destacou-se devido aos valores de dominância, ou seja, apesar de não estar nem entre as dez mais abundantes, foi a segunda mais dominante da floresta.

Na mesma Estação Experimental do trabalho anterior, Canalez, Dalla Corte & Sanquetta (2006) realizaram um trabalho que trata das mudanças estruturais no período

1995-2004 de oito espécies da família Lauraceae. Os autores observaram que algumas canelas – mais nitidamente *Ocotea puberula* (canela-guaicá), *Nectandra* sp. (canela-imbuia) e a *Ocotea porosa* apresentaram distribuições diamétricas com poucos elementos nas classes menores, indicando descontinuidade de regeneração. Neste mesmo trabalho, a *O. porosa* também apresentou recrutamento muito modesto, sendo que no período do estudo somente um indivíduo novo ultrapassando 10 cm de DAP. Os autores também indicam que todas as espécies estudadas apresentaram para os indivíduos adultos, padrão de distribuição agregada, utilizando o Índice de Morisita.

Em uma análise dendroecológica de *O. pulchella* (canela-lageana) na Serra Geral de Santa Maria no Estado do Rio Grande do Sul, para a obtenção dos dados de crescimento, foi feita uma datação dos anéis de crescimento, começando com o último anel antes da derrubada das árvores (Spathelf *et al.*, 2000). Das cinco árvores estudadas, quatro apresentaram DAP sem casca superior a 26 cm, sendo que a idade mínima para elas foi de 62 anos.

3.4- FENOLOGIA

A fenologia é o estudo das fases ou atividades do ciclo de vida de plantas ou animais e sua ocorrência temporal ao longo do ano, contribuindo para o entendimento dos padrões reprodutivos e vegetativos de plantas e animais que delas dependem (Morellato, 1995). O conhecimento sobre a fenologia permite prever as épocas de reprodução das plantas, seus ciclos de crescimento e outras características, assim como avaliar a disponibilidade de recursos ao longo do ano (Fournier, 1974, Morellato, 1995).

Estudos de fenologia de espécies nativas são de importância fundamental para o entendimento da complexa dinâmica das comunidades florestais, assim como possíveis

indicadores das condições climáticas e edáficas de um ambiente (Fournier & Charpentier, 1975). Assim, os estudos sobre fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em áreas florestais são necessários para fornecer parâmetros com vistas à conservação e exploração racional (Reis, 1996).

Estudos fenológicos em florestas tropicais envolvendo observação direta de plantas têm utilizado, em sua maioria, dois métodos de avaliação: 1. qualitativa, definindo apenas a presença ou ausência da fenofase considerada e 2. semi-quantitativa, com a aplicação de categorias de quantificação que estimam a intensidade do evento fenológico em cada indivíduo, sendo mais comum a utilização de cinco categorias de quantificação (0 a 4), com intervalo de 25% entre elas (Bencke & Morellato, 2002). A metodologia semi-quantitativa é baseada na caracterização das fenofases (floração em botão, floração em antese, frutos verdes e frutos maduros) e na intensidade das mesmas (Fournier, 1974).

A fenologia reprodutiva tem sido alvo de vários estudos, tanto de comunidades, como de espécies na Floresta Tropical Atlântica. Mariot *et al.* (2002) avaliou aspectos da fenologia e dispersão de *Piper cernuum*, assim como Mantovani (2003) avaliou a fenologia reprodutiva de uma população natural de *A. angustifolia*, no Estado de São Paulo. Também há trabalhos relacionados à fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* (Mantovani, 1998), *Chorisia speciosa* (De Luca, 2002), *Cedrella fissilis* (Santos & Takaki, 2005), assim como há vários trabalhos sobre a fenologia de comunidades (Morellato *et al.* 2000; Marques & Oliveira, 2004; Bencke & Morellato, 2002; Mantovani *et al.*, 2003).

Em dois trabalhos sobre dispersão em espécies da Família Lauraceae também foram caracterizados os períodos de frutificação das mesmas. Krügel, Burger & Alves (2006) observaram que em uma área de Floresta Estacional Decidual no Estado do Rio

Grande do Sul, a espécie *Nectandra megapotamica* apresenta frutos maduros entre dezembro e início de fevereiro, com pico de frutificação em janeiro. Da mesma forma, Francisco & Galetti (2002) indicam que foram encontrados frutos maduros de *O. pulchella* entre os meses de agosto e outubro.

4- METODOLOGIA

4.1- ÁREA DE ESTUDO

O presente trabalho foi desenvolvido na Reserva Genética Florestal de Caçador, que está inserida na região meio-oeste do município de Caçador – SC. A Reserva, que está localizada a 15 km do centro de Caçador, possui uma área total de 772 ha. Esta área pertence à EPAGRI – Estação Experimental de Caçador, que detém o título de posse em regime de comodato com a empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

O clima da região é do tipo Cfb de Köppen (mesotérmico, úmido sem estação seca definida, verões frescos, com ocorrência de geadas severas e freqüentes no inverno). Os solos predominantes na região são denominados de nitossolo e latossolos.

A cobertura vegetal original desta região é descrita por Klein (1978), como vegetação com predominância de indivíduos de *Araucaria angustifolia* bem desenvolvidos associados principalmente à *Ocotea porosa*, *Ilex paraguariensis* e *Sloanea lariocoma*.

A escolha dessa área para os estudos de auto-ecologia da espécie se deve ao fato da mesma possuir um histórico de baixa exploração, mantendo desse modo, a integridade ecológica.

4.2- DEMOGRAFIA

4.2.1- Adultas

Os levantamentos demográficos foram realizados em uma parcela permanente de 51.000 m² (300 x 170m) dividida em sub-parcelas de 100m² (10 x 10m) para facilitar a localização e avaliação das plantas, visando verificar a densidade e frequência de indivíduos *O. porosa*.

As plantas com CAP maior ou igual a 31,4 cm (DAP > 10 cm) foram avaliadas em toda a parcela quanto à circunferência à altura do peito (CAP) utilizando-se trena. Apesar da grande quantidade de brotos emitidos pela espécie, apenas as medidas relativas ao tronco principal foram utilizadas no presente trabalho. Todas as plantas foram etiquetadas com placas de alumínio contendo o número da sub-parcela e da planta. As plantas também foram mapeadas com coordenadas (x,y) para as análises de distribuição e de autocorrelação genética espacial. Posteriormente, todas as medidas de CAP foram transformadas para Diâmetro à Altura do Peito (DAP).

A partir dos dados coletados, obteve-se a densidade média para indivíduos adultos de *O. porosa* para a área em estudo. Baseadas igualmente nos dados coletados, foram montadas tabelas com a distribuição de frequências em classes diamétricas assim como um gráfico com a representação da mesma.

4.2.2- Jovens

Na parcela de 5,1 ha, foram selecionadas três áreas de 50m x 50m (Parcelas A, B e C), também divididas em sub-parcelas de 10 m x 10 m. Nessas três parcelas foram realizados os levantamentos da estrutura demográfica das plantas jovens, assim como os levantamentos da sua distribuição espacial. Foram consideradas plantas jovens todos os indivíduos de *O. porosa* com DAP menor que 10 cm, bem como aqueles com altura menor que 1,3 m.

As plantas jovens foram avaliadas quanto a sua frequência, quanto à altura total, com auxílio de régua dendrométrica e, quando possível, quanto à circunferência à altura do peito com trena dendrométrica. Todas as plantas foram etiquetadas com placas de alumínio contendo o número da sub-parcela e da planta e mapeadas através de coordenadas (x,y).

Com base nos dados obtidos nas avaliações foi calculada a densidade média de indivíduos jovens, bem como o seu desvio padrão. Assim como nas plantas adultas, foram montadas tabelas de distribuição de frequências, esta em classes de altura, e respectivos desvios padrão. A partir das tabelas de frequência foram construídos gráficos incluindo os erros padrão da média para melhor visualização.

Também foi montada uma tabela de distribuição de frequências baseada nos percentuais relativos de cada classe para as parcelas. Do mesmo modo, foi criado um gráfico com base nos dados dessa tabela, incluindo os erros padrão da média.

4.2- DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL

Clark & Evans (1954) propuseram uma medida da maneira e grau a qual a distribuição de indivíduos em uma população sobre uma dada área bidimensional desvia-se de uma distribuição aleatória. Neste índice a distância de um indivíduo ao seu vizinho mais próximo, independente de direção, fornece a base para uma medida de espaçamento.

Na análise da estrutura espacial de *O. porosa* foram utilizados todos os indivíduos adultos presentes na parcela de 5,1 ha e todos os indivíduos jovens presentes nas três parcelas de 0,25 ha (A, B e C).

Com base no mapeamento das plantas foi calculada a distância média do vizinho mais próximo. Posteriormente foram obtidos os valores do índice de dispersão de Clark-Evans, conforme Clark & Evans (1954):

$$R = \frac{\overline{r_A}}{\overline{r_E}}$$

Sendo:

$\overline{r_A}$ = distância média observada do vizinho mais próximo

$$\overline{r_A} = \frac{\sum r_i}{n}$$

Onde:

r_i = distância do vizinho mais próximo;

n = número de indivíduos.

$\overline{r_E}$ = distância esperada do vizinho mais próximo

$$\overline{r_E} = \frac{1}{2\sqrt{\rho}}$$

Onde:

ρ = densidade média de indivíduos

Para uma distribuição completamente aleatória o valor da razão é 1,0; sob condições de agregação máxima é igual à zero, visto que todos os indivíduos ocupam o mesmo local e a distância ao vizinho mais próximo é zero; e, sob condições de máximo

espaçamento, cada indivíduo será equidistante de outros indivíduos, neste caso a distância média será maximizada e o valor da razão será 2,149 (Clark & Evans 1954).

Para testar a significância do desvio da distância observada em relação à distância esperada, foi utilizada a variável padrão da curva normal, conforme recomendado por Clark & Evans (1954):

$$Z = \frac{\overline{r_A} - \overline{r_E}}{\sigma \overline{r_E}}$$

Sendo:

$$\sigma \overline{r_E} = \frac{0,26136}{\sqrt{n\rho}}$$

Onde:

n = número de indivíduos

ρ = densidade média de indivíduos

4.3- DIVERSIDADE GENÉTICA

4.3.1- Coleta (Amostragem)

A coleta para caracterização genética foi feita para todos os indivíduos adultos da parcela de 5,1 ha, em um total de 136 indivíduos. Para a caracterização dos indivíduos jovens foram amostrados todos os que estavam presentes em uma das parcelas de 50 m x 50 m (Parcela A), totalizando 74 indivíduos.

A amostragem foi feita coletando-se pelo menos um ramo portador de folhas maduras dos indivíduos selecionados. Para a coleta dos indivíduos adultos utilizaram-se estilingues e pedras devido ao porte das plantas. Os ramos com as folhas foram acondicionados em sacos plásticos, devidamente identificados e armazenados em caixa

térmica, com gelo coberto por jornal para evitar a queima do material. As amostras foram mantidas nas caixas térmicas até o seu transporte ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento Genético Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, onde eram transferidos para a geladeira. A temperatura da geladeira foi mantida em torno dos 5° C para que a atividade enzimática das amostras fosse conservada. O material foliar foi conservado em geladeira até o dia da corrida eletroforética, tomando-se o cuidado para que esse intervalo de tempo não ultrapassa-se quinze dias, pois poderia afetar a atividade enzimática das amostras.

4.3.2- Preparo do Gel

O meio suporte utilizado para o desenvolvimento do presente trabalho foi o gel de amido de milho (penetrose 30) a 13%. Para a obtenção do mesmo, eram pesados 39g de penetrose 30 e colocados em um erlenmeyer de 500 ml onde se adicionava 300 ml da solução-tampão do gel, Tris-Citrato (Alfenas *et al.*, 1991). A mistura era homogeneizada e levada ao forno de microondas, onde era cozida. A cada 40 segundos o cozimento era interrompido e o frasco era agitado fortemente, visando homogeneizar o cozimento. Após as três primeiras paradas, passava-se a interromper o cozimento a cada 20 segundos, procedimento que era mantido até a mistura atingir a fervura. Neste momento o cozimento era interrompido, tomando-se o cuidado de não deixar a solução extravasar, e a mistura era agitada fortemente, voltando posteriormente ao forno de microondas. Esse procedimento era repetido por mais duas vezes, sendo que na última o gel era despejado, com o auxílio de uma peneira, em uma moldura sobre superfície plana. Essa moldura consistia de uma placa de vidro temperado, delimitada por quatro barras de acrílico fixadas com fita adesiva. O gel permanecia em temperatura ambiente até o resfriamento, quando era coberto por uma placa de vidro e mantido sobre refrigeração ($\pm 5^\circ \text{C}$) até o momento do uso, no dia seguinte.

4.3.3- Extração

A extração é uma das etapas mais delicadas da eletroforese, A exposição à luz e alta temperatura interfere na reação enzimática, portanto, procurava-se ser o mais breve possível nesta etapa. Antes da extração, era realizada a lavagem com água destilada das amostras foliares a fim de evitar contaminação da amostra por possíveis organismos presentes na superfície foliar. Placas de porcelana, contendo 12 “poços” cada, eram resfriadas com o auxílio de barras de gelo para que as enzimas tivessem sua atividade enzimática preservada ao máximo. Em cada poço era posto aproximadamente 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP) e 30 mg de areia lavada, previamente preparada (24 hs em água corrente, 24 hs em ácido sulfúrico e 24 hs em água corrente). A seguir as amostras foliares eram depositadas nos poços e posteriormente cada amostra recebia três gotas de solução de extração nº 1 de Alfenas *et al.* (1998). As amostras eram maceradas com o auxílio de um bastão de acrílico até o completo “rompimento” do material foliar. O material extraído era absorvido em papel filtro (Whatman nº 3), com dimensões de 5 x 20 mm (wicks).

4.3.4- Carregamento do gel

O gel era retirado da geladeira somente na hora da aplicação das amostras para que as suas características fossem mantidas. A placa de vidro que cobria o gel era removida, e com o auxílio de um bisturi e de uma régua o gel era cortado perpendicularmente à 3,5 cm de uma das extremidades. A parte cortada era afastada e nas extremidades do gel eram postos dois wicks embebidos em solução de azul de bromofenol (0,1%), como marcadores, para poder ser feita a visualização da linha de frente da corrida. Posteriormente eram aplicadas as amostras, lado a lado, ao longo do gel, sendo que cada gel comportava até 28 amostras. Depois de terminado esse processo, a face cortada do gel era reaproximada do mesmo a fim de que as amostras

ficassem em contato com as duas faces do gel. Para aumentar esse contato, era posto um canudo plástico entre a porção cortada o gel e a moldura de acrílico que era novamente fixada com fita adesiva.

4.3.5- Corrida Eletroforética

A corrida eletroforética consiste na aplicação de determinada corrente elétrica no gel, no intuito de realizar a migração das enzimas. As “corridas” eram realizadas sempre dentro de geladeira a 5° C, para manter a integridade das enzimas, visto que a corrente elétrica produz calor.

A moldura com o gel e as amostras era posto sobre duas cubas que continham, cada, 500 ml de solução-tampão de corrida Tris-Citrato (Alfenas *et al.*, 1991). Para que houvesse o contato entre o gel e a solução-tampão era usado um tecido tipo “Perfex”, previamente embebido na solução-tampão, que servia como ponte, cobrindo 2 cm de cada lado. As cubas eram conectadas a uma fonte que continha a programação da corrida. Nos primeiros 20 minutos era aplicada uma corrente constante de 100 volts. Decorrido este tempo, os wicks eram retirados do gel, com o auxílio de uma pinça, o gel era coberto com uma placa de vidro e em cima desta era posta uma barra de gelo para ajudar na dissipação do calor. A corrida continuava com uma corrente de 150 Volts por mais 20 minutos, passando, após esse período, para 210 volts até o final da corrida. Quando o marcador atingia 7 – 8 cm de migração a fonte era desligada, o gelo e a placa de vidro eram retirados de cima do gel, a ponte era desfeita e o gel retirado da geladeira.

4.3.6- Corte do Gel

As fitas adesivas que seguravam as molduras eram cortadas com o auxílio de um bisturi e as barras de acrílico eram retiradas. A porção menor do gel era desprezada, pois nenhum dos locos estudados apresentava enzimas com carga elétrica positiva. A

placa de vidro que continha o gel era posta sobre uma armação de madeira contendo um prego em cada extremidade. Nesses pregos eram encaixadas 12 réguas de acrílico perfuradas, seis de cada lado do gel. Com o auxílio de um fio de Nylon 0,20 mm, apoiado sobre a pilha de réguas, o gel era cortado. A cada corte uma régua de cada lado era removida. Ao final da operação obtinham-se sete camadas de gel, sendo que a primeira camada era descartada. As camadas subsequentes eram retiradas, uma a uma, com o auxílio de uma folha de papel absorvente umedecido. Cada camada era colocada em uma travessa de porcelana devidamente identificada que era guardada em geladeira até o momento de receber a solução de coloração.

4.3.7- Coloração

Para coloração foram utilizados 11 sistemas isoenzimáticos (Tabela 1), que revelaram 12 locos passíveis de leitura para os indivíduos adultos e 10 para os indivíduos jovens, conforme o protocolo desenvolvido por Bittencourt *et al.* (em preparação).

Tabela 1 – Sistemas enzimáticos, código e sigla das enzimas e classes de indivíduos a qual foram empregados. NPFT- RGV – UFSC, 2007

Enzima	Código	Sigla	Adultas	Jovens
Malato Desidrogenase	EC 1.1.1.37	MDH	X	X
Superóxido Dismutase	EC 1.15.1.1.	SOD	X	
Peroxidase	EC 1.11.1.7	PRX	X	X
Xiquimato Desidrogenase	EC 1.1.1.25	SKDH	X	
Fosfoglucomutase	EC 5.4.2.2	PGM	X	
Diaforase	EC 1.8.1.4	DIA	X	X
Glutamato Oxaloacetato Transaminase	EC 2.6.1.1	GOT	X	X
Esterase	EC 3.1.1.1	EST	X	X
Glutamato Desidrogenase	EC 1.4.1.2	GTDH	X	X
Fosfogluco Isomerase	EC 5.3.1.9	PGI		X
Fosfatase Ácida	EC 3.1.3.2	ACP	X	X

As soluções de coloração eram preparadas logo após o corte do gel de acordo com as receitas propostas por Alfenas *et al.* (1998). Após o preparo da solução de coloração, a camada do gel referente àquele sistema era retirada da geladeira e recebia a solução. Depois que o gel recebia a solução de coloração, a bandeja que possuía o mesmo era coberta por uma tampa e posta em uma estufa com a temperatura em torno dos 35° C, excetuando-se o gel do sistema SOD que tinha que ser revelado à luz. Este era posto em um banho-maria que mantinha a temperatura em torno de 35° C e permanecia destapado. Cada sistema enzimático possui um determinado tempo de coloração que, passado esse, revela a posição relativa da enzima, a banda.

4.3.8- Interpretação dos Zimogramas

Após a revelação das enzimas, a solução de coloração presente na bandeja era drenada para evitar a formação de borrões no gel. As bandas formadas nos géis constituem o zimograma, que é interpretado considerando a estrutura quaternária da enzima e a segregação aparente da região. Após a interpretação, os géis eram fotografados para posterior reinterpretação, se necessário.

Os locos e os alelos eram numerados, de maneira crescente, daquele que apresenta maior mobilidade para o que apresenta menor mobilidade. Em cada gel era aplicado um indivíduo testemunha, que auxiliava na definição das posições dos alelos nos diferentes géis.

4.3.9- Análise dos Dados

Com base na interpretação dos zimogramas, foram calculadas, para os indivíduos jovens e adultos, as frequências alélicas e os índices de diversidade intrapopulacional – porcentagem de locos polimórficos, número de alelos por loco,

número de alelos por loco polimórfico, heterozigosidade observada e esperada e índice de fixação.

As frequências alélicas foram obtidas empregando-se o programa BIOSYS-2 (Swofford & Selander, 1997), sendo:

$$p_{ij} = n_{ij}/n_j$$

onde:

p_{ij} = frequência do alelo i na população j ;

n_{ij} = número de ocorrências do alelo i na população j ;

n_j = número total de alelos amostrados na população j .

A porcentagem de locos polimórficos (P), foi estimada considerando-se o número de locos que apresentou o alelo mais freqüente com ocorrência inferior a 100%, em relação ao total de locos. A estimativa deste índice não levou em consideração os critérios sugeridos por Nei (1978) sobre número de indivíduos analisados. Assim,

$$P = (\text{n}^\circ \text{ de locos polimórficos} / \text{n}^\circ \text{ total de locos}) \times 100$$

O número médio de alelos por loco (A) foi estimado a partir da média aritmética do número de alelos de cada loco, entre os locos. Assim,

$$A = \sum_{i=1}^r K_{.i} / r$$

Onde:

$\sum_{i=1}^r k.i$ = somatório do número de alelos em cada loco;

r = número de locos.

O número médio de alelos por loco polimórfico (AP) foi estimado dividindo-se o número de alelos em todos os locos pelo número de locos polimórficos. Para estimar o AP, empregou-se o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2001):

$$AP = \sum_{i=1}^r k_i / s$$

sendo,

$\sum_{i=1}^r k_i$ = somatório do número de alelos em cada loco;
r = número de locos polimórficos.

A heterozigosidade média observada (H_o), foi obtida pela média entre os locos do número de indivíduos heterozigotos dividido pelo número de indivíduos amostrados. Assim,

$$H_o = [(\sum P_{ij}) / n] / l$$

Onde:

$\sum P_{ij}$ = somatório dos indivíduos heterozigotos do loco j na população k ;
n = número de indivíduos em cada loco;
l = número de locos.

A heterozigosidade esperada (H_e) foi obtida empregando-se o estimador não viesado de Nei (1978), pela seguinte equação:

$$H_e = 2n (1 - \sum_{i=1}^c \hat{p}_i^2) / (2n - 1)$$

Onde:

p_i = frequência do alelo i ;
n = número de indivíduos amostrados.

Os índices de fixação (F) foram estimados pelos desvios da heterozigosidade esperada, assim:

$$F = (H_e - H_o) / H_e$$

A significância dos valores de F (hipótese da nulidade: $F = 0$) e a aderência dos dados ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, foram avaliadas pelo teste χ^2 conforme Li & Horvitz (1953).

$$\chi^2 = N.F^2 (k-1)$$

Onde:

N = tamanho médio da amostra por loco;

F = índice de fixação;

k = número médio de alelos por loco.

Os graus de liberdade para a análise da significância dos valores de χ^2 , foram obtidos pela seguinte formula:

$$GL = [k.(k-1)]/2$$

Onde:

k = número médio de alelos por loco.

4.4- AUTOCORRELAÇÃO ESPACIAL

A análise da distribuição espacial dos genótipos foi realizada com o auxílio do programa Spatial Genetic Software (SGS) de Degen *et al.* (2001). Foram utilizados na análise de autocorrelação espacial os nove locos polimórficos (MDH-1, EST-1, PRX-1, PRX-2, PGM-1, GOT-1, ACP-1, DIA-1, SKDH-1). Para a análise foram utilizadas 12 classes de distância, sendo que cada classe corresponde a de 19 m. Foram utilizadas as estimativas do índice I de Moran para autocorrelação espacial entre classes de distância para cada loco e para o conjunto dos mesmos segundo Sokal & Oden (1978):

$$I = \frac{n \sum_i \sum_j w_{ij} Z_i Z_j}{w \sum_i Z_i}$$

A significância total do correlograma foi testada utilizando-se os critérios de Bonferoni (Sakai & Oden, 1983).

4.5- FENOLOGIA REPRODUTIVA

A fenologia reprodutiva da *O. porosa* foi avaliada através do acompanhamento mensal, durante 15 meses, de 36 indivíduos reprodutivos presentes na parcela de 5,1 ha segundo os critérios de Fournier & Charpentier (1975). A escolha dos indivíduos que foram acompanhados foi feita baseada na facilidade de visualização da copa destes, procurando seleccionar indivíduos distribuídos por toda a parcela. O acompanhamento da fenologia reprodutiva da *O. porosa* teve início em agosto de 2005 e foi finalizado em outubro de 2006. As observações foram feitas sempre na última quinzena de cada mês e eram realizadas com o auxílio de binóculos, devido ao pequeno tamanho das flores e frutos e das dimensões dos indivíduos de *O. porosa*. Em 2006, após o começo da floração, as avaliações foram semanais para identificar mais detalhadamente as variações entre botões florais e flores em antese.

A divisão das fenofases utilizada foi: botões florais – início da emissão da estrutura reprodutiva até o início da antese; flores em antese – início da antese até a oxidação dos elementos florais; frutos verdes – desde a oxidação dos elementos florais até a maturação do fruto; e frutos maduros – mudança de coloração dos frutos de verde para “púrpura” até a dispersão dos mesmos. A intensidade de cada fenofase foi estimada através de uma escala intervalar semi-quantitativa de cinco categorias (0 a 4), com

intervalos de 25% entre cada uma delas, sendo posteriormente calculada a porcentagem de intensidade segundo Fournier (1974).

Com os dados coletados desde foi construído um dendrofenograma para a representação cronológica do comportamento fenológico da *O. porosa*, conforme sugerido por Fournier (1976). Foram feitas correlações de Spearman (r_s) entre os dados de fenologia e as variáveis climáticas (precipitação e temperatura) para o mês em questão e para os dois meses antecedentes. Os dados meteorológicos foram obtidos através da EPAGRI – Estação Experimental de Caçador. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do Software STATISTICA 6.0.

4.6- OBSERVAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS

Para avaliar a ecologia de polinização de *Ocotea porosa*, foram realizadas observações naturalísticas contínuas, durante os períodos noturno e diurno nas florações dos anos de 2005 e 2006, visando caracterizar os visitantes florais. As observações foram feitas em duas plantas nas quais foram instaladas torres metálicas. As observações noturnas foram realizadas com auxílio de lanternas elétricas cobertas com filtro vermelho. Com auxílio de um cronômetro foram registrados a frequência, a duração e o comportamento de visita de cada espécie às flores de *Ocotea porosa*.

5- RESULTADOS

5.1- DEMOGRAFIA

5.1.1- Adultas

Nos 5,1 ha da parcela foram identificados 138 indivíduos reprodutivos (Tabela 2), gerando uma média de 27,1 indivíduos reprodutivos por hectare. Todos os indivíduos registrados acima de 10 cm de DAP eram reprodutivos. Muitos indivíduos

apresentavam brotações, sendo estas de várias dimensões. Esse conjunto de indivíduos resultou em um DAP médio de 0,51 m, com amplitude de 0,10 m a 1,43 m, desconsiderando as ramificações e brotações.

Tabela 2 - Distribuição de frequência em classes diamétricas para indivíduos reprodutivos em uma área de 5,1 ha de uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Classes Diamétricas (cm)	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)	Frequência Relativa Acumulada (%)
10 - 20	8	5,8	5,8
20 - 30	23	16,7	22,5
30 - 40	28	20,3	42,8
40 - 50	16	11,6	54,3
50 - 60	17	12,3	66,7
60 - 70	15	10,9	77,5
70 - 80	9	6,5	84,1
80 - 90	12	8,7	92,8
90 - 100	4	2,9	95,7
100 - 110	2	1,4	97,1
110 - 120	2	1,4	98,6
120 - 130	1	0,7	99,3
130 - 140	0	0,0	99,3
140 - 150	1	0,7	100,0
Total	138	100	

Considerando a distribuição em classes diamétricas (Tabela 2 e Figura 1) é possível perceber uma maior frequência de indivíduos nas primeiras classes de DAP, sendo que esse número vai diminuindo conforme as classes diamétricas aumentam. Essa tendência fica clara quando se observa que as quatro classes iniciais apresentam 54,3% dos indivíduos reprodutivos, as quatro classes centrais contém 29 % e as quatro últimas classes, menos de 2,9% dos indivíduos (Tabela 2).

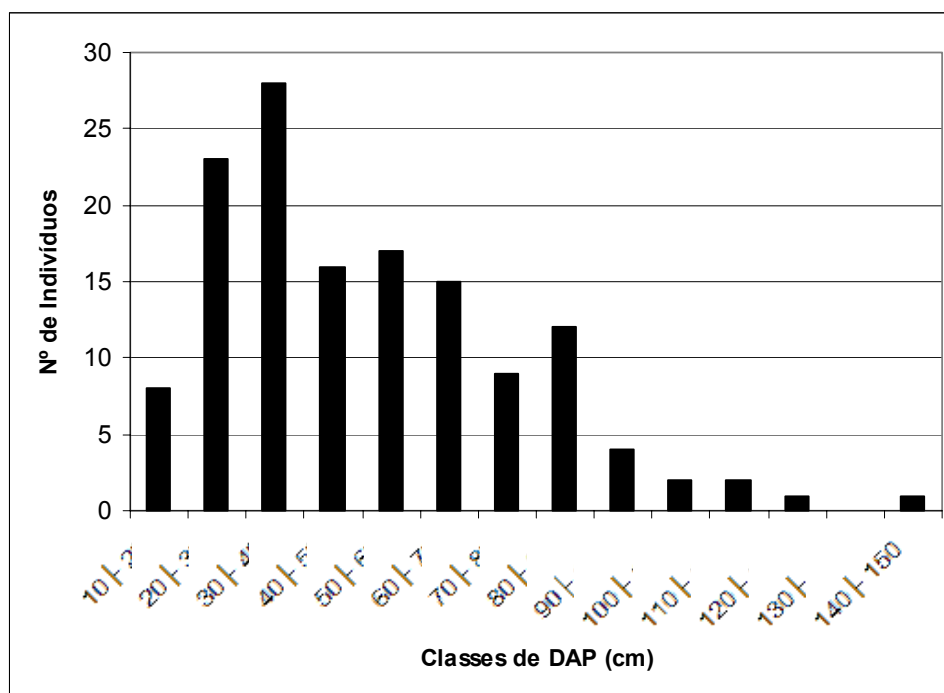


Figura 1- Distribuição de frequência em classes diamétricas para indivíduos reprodutivos em uma área de 5,1 ha de uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

5.1.2- Jovens

Para os indivíduos jovens, os resultados das três parcelas (50m x 50m) foram 424 indivíduos/ha, 180 indivíduos/ha e 992 indivíduos/ha, respectivamente para as Parcelas A, B e C. Com base nos dados obtidos nas parcelas, a média foi de 532,0 ($s=416,6$) indivíduos jovens por hectare.

Tabela 3 - Distribuição de frequência média por hectare em classes de altura para indivíduos jovens em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Classes de Altura (m)	Frequência Absoluta	Desvio Padrão	Frequência Relativa (%)	Frequência Relativa Acumulada (%)
0,0 - 0,3	224,0	184,5	42,1	42,1
0,3 - 0,6	232,0	196,5	43,6	85,7
0,6 - 0,9	46,7	39,5	8,8	94,5
0,9 - 1,2	12,0	10,6	2,3	96,7
1,2 - 1,5	4,0	4,0	0,8	97,5
1,5 - 1,8	0,0	0,0	0,0	97,5
1,8 - 2,1	8,0	8,0	1,5	99,0
2,1 - 2,4	1,3	2,3	0,3	99,2
2,4 - 2,7	0,0	0,0	0,0	99,2
>2,7	4,0	6,9	0,8	100,0
Total	532		100	

A altura das plantas jovens variou de 0,09 m até 3,7 m e a média por parcela foi de 30,3 cm, 77,5 cm e 38,7 cm, gerando uma média geral de 48,9 cm ($s = 25,2$ cm). Classificando os indivíduos jovens em uma tabela de distribuição de frequências em classes de altura (Tabela 3, Figura 2) observa-se, assim como nos indivíduos adultos, uma concentração de indivíduos nas primeiras classes, sendo que 85,7% dos indivíduos estão presentes nas duas primeiras classes que englobam indivíduos com até 60 cm.

Tanto para os dados de número de indivíduos/ha quanto para os dados de altura média, os desvios padrão foram muito grandes, indicando haver uma grande variação na densidade e tamanho dos indivíduos jovens ao longo da área.

Utilizando-se, ao invés da frequência de indivíduos, o percentual de indivíduos por classe é possível observar que o erro padrão da média diminui significativamente, o que denota que apesar da variação encontrada para a densidade de indivíduos jovens de *O. porosa*, o padrão de distribuição em classes de altura se mantém. Fica caracterizado desse modo que a espécie utiliza a estratégia de banco de plântulas.

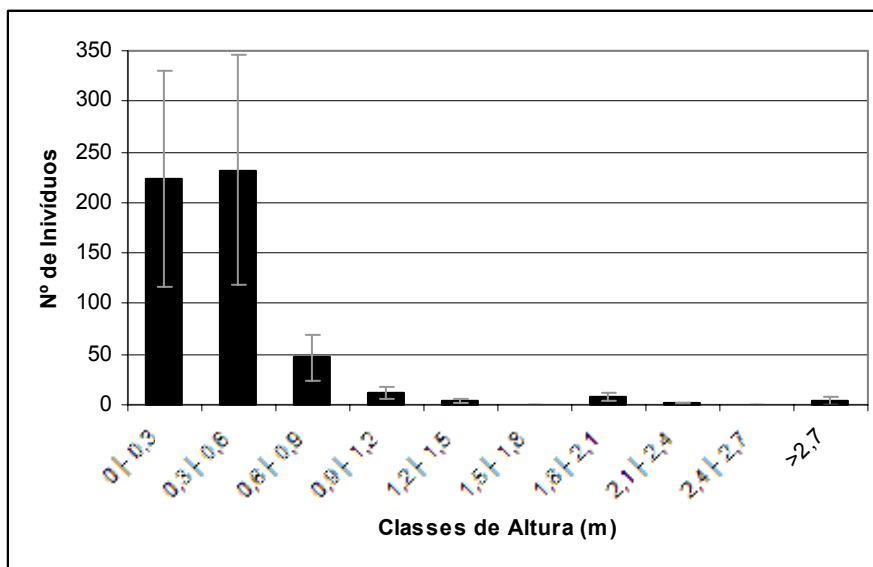


Figura 2 - Distribuição de freqüência média por hectare em classes de altura e respectivos erros padrões da média para indivíduos jovens em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

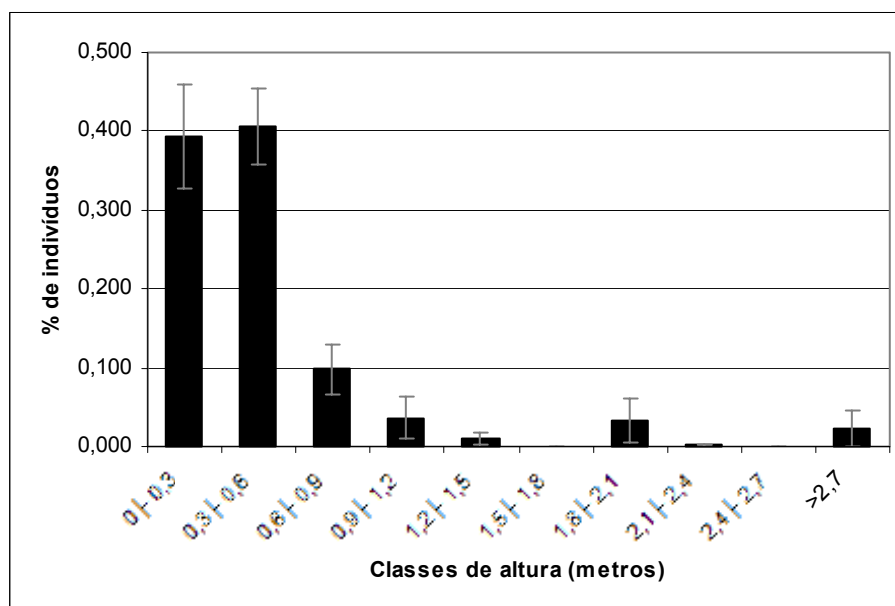


Figura 3 - Distribuição de freqüência média por hectare percentual em classes de altura e respectivos erros padrões da média para indivíduos jovens em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

5.2- DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL

A distância média para o vizinho mais próximo obtida para os indivíduos adultos na população de *O. porosa* foi de 8,6 m. Na Figura 4 está representada a distribuição espacial dos indivíduos adultos da Parcela de 5,1 ha e a localização das três parcelas de avaliação dos indivíduos jovens.

O índice de agregação através do vizinho mais próximo (Clark & Evans, 1954) para os indivíduos adultos foi igual a 0,90, sendo significativo a 5% de confiança, mas não significativo a 1%. Esses valores indicam que os indivíduos adultos de *O. porosa* presentes na área de estudo apresentam um padrão tendendo ao agrupado.

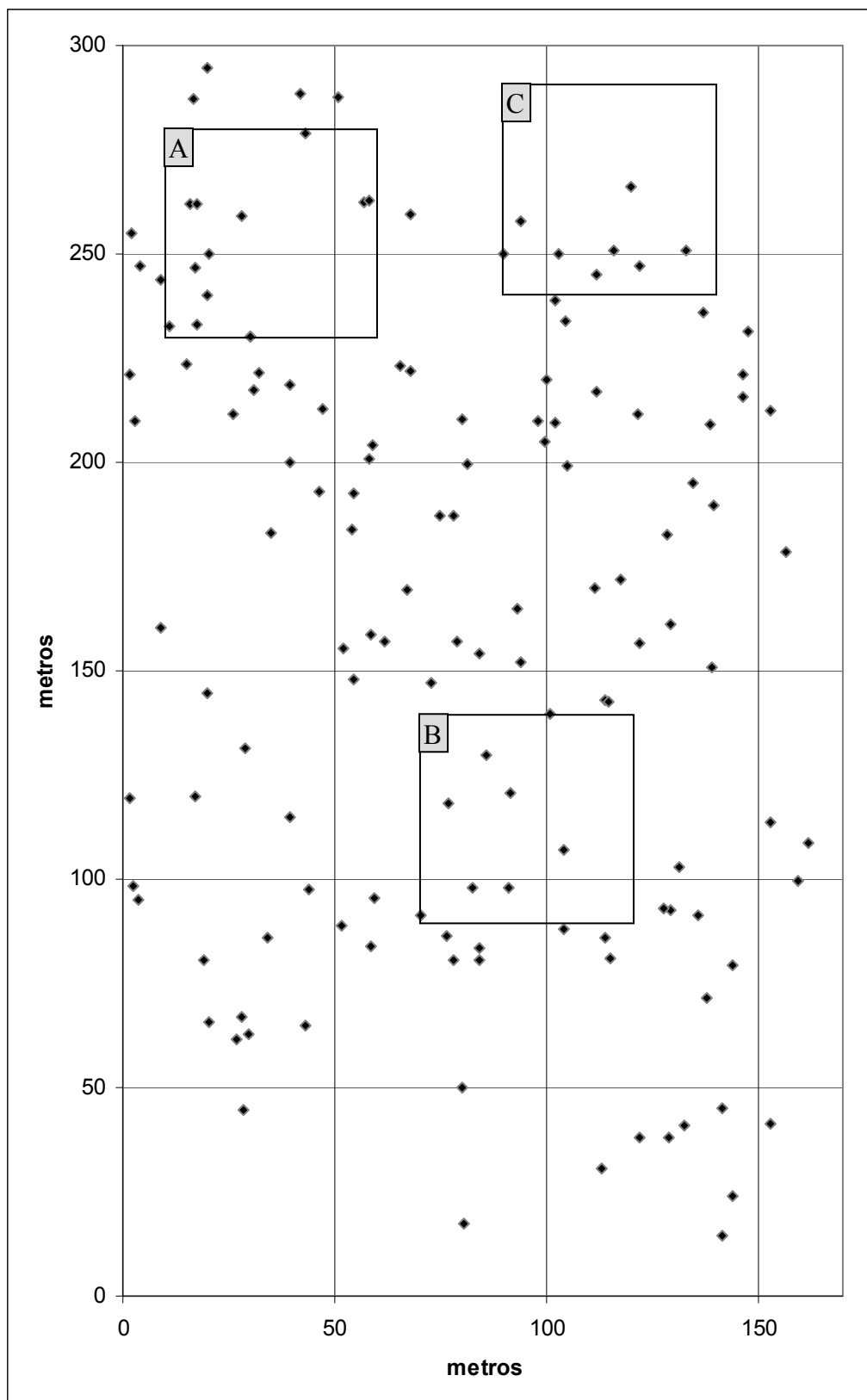


Figura 4 - Distribuição espacial dos indivíduos reprodutivos na Parcela de 5,1 ha em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador e localização das parcelas de avaliação dos indivíduos jovens, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

As Figuras 5, 6 e 7 representam as parcelas de avaliação dos indivíduos jovens A, B e C respectivamente e a distribuição espacial destes.

Nas parcelas A e B as distâncias médias entre os vizinhos mais próximos foram de 2,04 e 3,14 m, respectivamente. Foi detectado para os indivíduos presentes nestas parcelas um padrão de distribuição tendendo ao agregado com $R = 0,84$ para as duas parcelas sendo significativo a 5% de confiança para as duas parcelas e significativo também a 1% para a Parcela B.

Para a Parcela C a distância média para o vizinho mais próximo foi e 0,74 m. O índice de agregação obtido para a parcela ($R = 0,46$) também indica que os indivíduos se distribuem de forma agregada ao longo do espaço. O índice de agregação para a parcela foi significativo a 1%.

Estes resultados sugerem que a espécie apresenta uma distribuição predominantemente agregada na fase jovem, porém com uma fraca agregação na fase adulta.

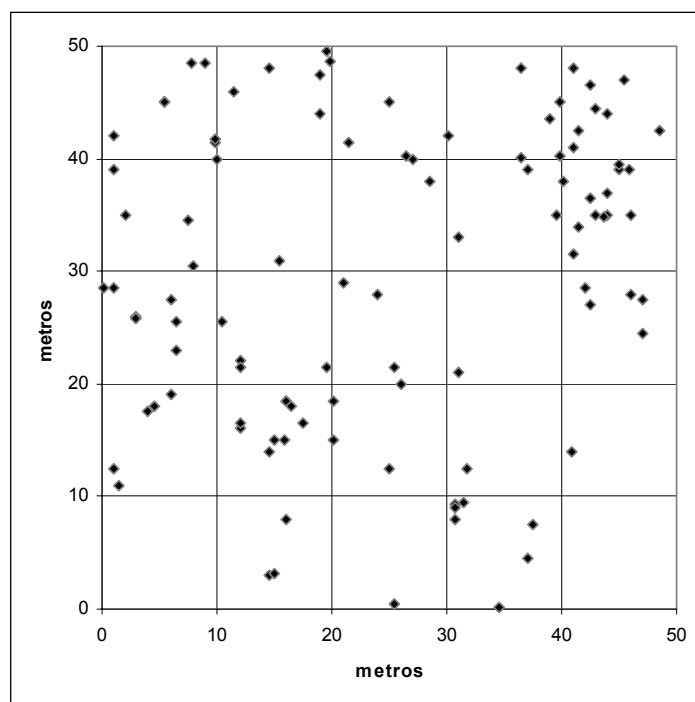


Figura 5 – Distribuição espacial de indivíduos jovens de *O. porosa* na Parcela A na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

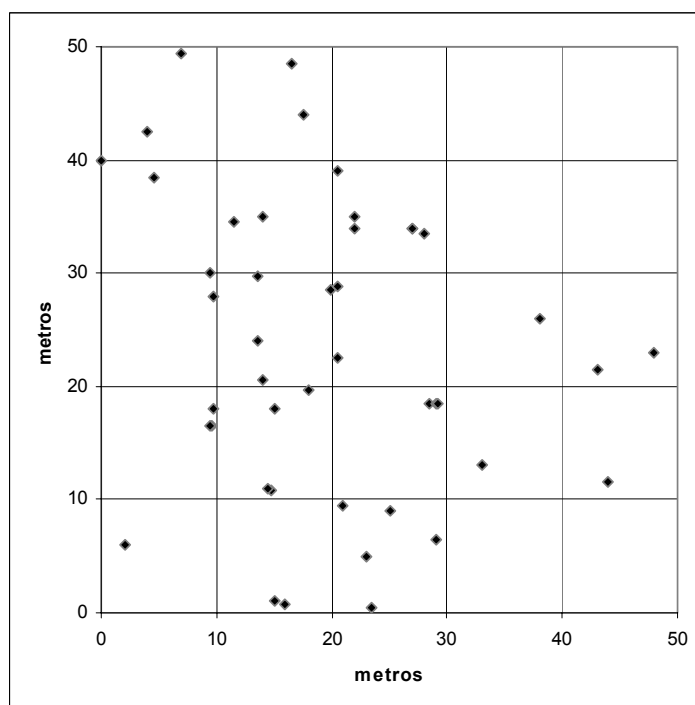


Figura 6 - Distribuição espacial de indivíduos jovens de *O. porosa* na Parcela B na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

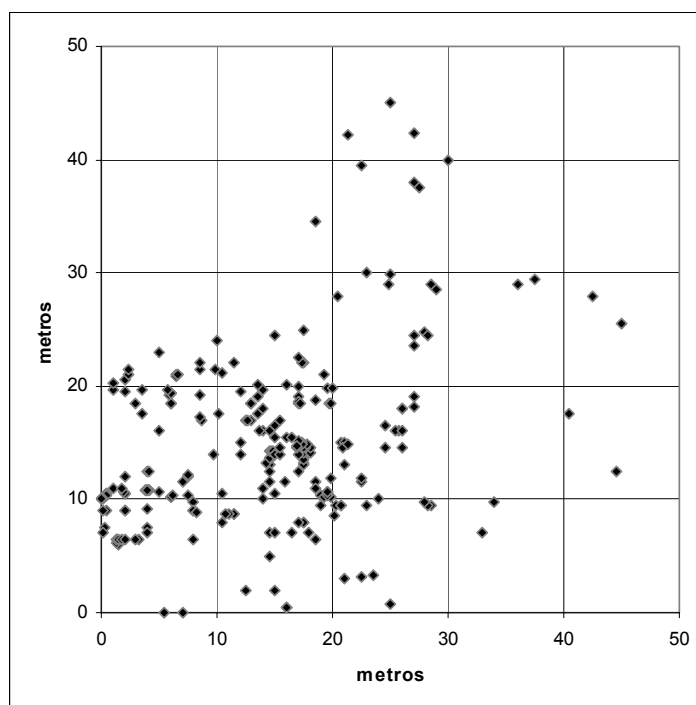


Figura 7 - Distribuição espacial de indivíduos jovens de *O. porosa* na Parcela C na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

5.3- DIVERSIDADE GENÉTICA

Foram analisados 12 locos alozímicos, sendo nove polimórficos, em 136 indivíduos reprodutivos de *O. porosa* presentes na parcela de 5,1 ha. Os índices de diversidade genética dos indivíduos jovens foram obtidos com base em 10 locos alozímicos, seis polimórficos, para 74 indivíduos presentes em uma das parcelas de 50m x 50m de avaliação de indivíduos jovens (Parcela A).

Através da análise das frequências alélicas (Tabela 4) é possível notar que alguns alelos encontrados para os indivíduos adultos não foram encontrados nos jovens. São estes os alelos MDH1-4, EST2-1, PRX2-1, ACP1-2 e DIA1-2. Porém vale ressaltar que os indivíduos jovens foram coletados em uma pequena área localizada dentro da população adulta.

Tabela 4 - Frequências alélicas em 14 locos enzimáticos de indivíduos jovens e adultos em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Locos		Jovens	Adultas
MDH-1	(N)	72	129
1		0,014	0,012
2		0,847	0,764
3		0,139	0,217
4		0,000	0,008
MDH-2	(N)	72	136
1		1,000	1,000
EST-2	(N)	72	135
1		0,000	0,030
2		0,986	0,967
3		0,014	0,004
PRX-1	(N)	-	123
1		-	0,012
2		-	0,789
3		-	0,199
PRX-2	(N)	68	116
1		0,000	0,047
2		0,132	0,172
3		0,301	0,198
4		0,566	0,582
PGM-1	(N)	-	109
1		-	0,005
2		-	0,766
3		-	0,229
PGI-1	(N)	72	-
1		1,000	-
PGI-2	(N)	65	-
1		0,154	-
2		0,723	-
3		0,123	-
GOT-1	(N)	65	132
1		0,162	0,356
2		0,638	0,617
3		0,200	0,027
ACP-1	(N)	62	128
1		0,266	0,207
2		0,000	0,141
3		0,718	0,605
4		0,016	0,047
DIA-1	(N)	72	129
1		1,000	0,942
2		0,000	0,058
SKDH-1	(N)	-	122
1		-	0,738
2		-	0,262
GTDH-1	(N)	72	136
1		1,000	1,000
SOD-1	(N)	-	136
1		-	1,000

- = não revelado

Os índices de diversidade genética intrapopulacional para os indivíduos adultos e jovens de *O. porosa* estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 - Tamanho da amostra (n), porcentagem de locos polimórficos (P), número de alelos por loco (A), número de alelos por loco polimórfico (AP), diversidade genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (f) para indivíduos jovens e adultos em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

População	n	P^1 (%)	A	AP	H_e	H_o	F
Adultas	127,6 (2,5)	75,0	2,6 (0,3)	3,11	0,274 (0,066)	0,127 (0,037)	0,537*
Jovens	69,2 (1,2)	60,0	2,1 (0,3)	2,83	0,226 (0,078)	0,101 (0,039)	0,552*

¹ Alelo mais freqüente com freqüência < 100%; * χ^2 p< 1%, ns – não significativo

Tanto os indivíduos adultos quanto os jovens apresentaram alta diversidade genética, $H_e = 0,274$ e $H_e = 0,226$ respectivamente (Tabela 5), porém os valores de Heterozigosidade observada foram baixos, resultando em altos índices de fixação (F). Estes altos índices de fixação, $F = 0,537$ para os indivíduos adultos e $F = 0,552$ para os jovens, indicam que os indivíduos amostrados apresentam um excesso de homozigotos.

Analizando os tanto os índices de heterozigosidade esperada e observada (Tabelas 6 e 7), assim como as freqüências alélicas (Tabela 4), nota-se que os valores para os indivíduos jovens e para os indivíduos adultos apresentam diferenças. Levando em conta somente os locos polimórficos comuns entre os indivíduos jovens e adultos (Tabela 8) essas diferenças ficam mais claras, ressaltando uma tendência dos indivíduos jovens apresentarem um índice de fixação superior ao dos adultos. Esse resultado sugere que as gerações mais novas são mais endogâmicas, produto de cruzamento entre aparentados, autofecundação ou de poucos pais, ou que durante o desenvolvimento dos indivíduos de *O. porosa* há seleção em favor de heterozigotos ou contra homozigotos.

Tabela 6 - Tamanho da amostra (n), diversidade genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (F) para todos os locos de indivíduos adultos em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Locos	n	H_e	H_o	F
MDH-1	129	0,371	0,240	0,353
MDH-2	136	0,000	0,000	0,000
EST-1	135	0,065	0,022	0,658
PRX-1	123	0,340	0,033	0,905
PRX-2	116	0,593	0,241	0,594
PGM-1	109	0,362	0,156	0,571
GOT-1	132	0,493	0,295	0,402
ACP-1	128	0,571	0,320	0,440
DIA-1	129	0,110	0,023	0,789
SKDH-1	122	0,389	0,197	0,495
GTDH-1	136	0,000	0,000	0,000
SOD-1	136	0,000	0,000	0,000
Polimórficos	124,8	0,366	0,170	0,536
Todos	128	0,274	0,127	0,537

Tabela 7 - Tamanho da amostra (n), diversidade genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (F) para todos os locos de indivíduos jovens em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Locus	n	H_e	H_o	F
MDH1	72	0,265	0,111	0,582
MDH2	72	0,000	0,000	0,000
EST1	72	0,028	0,000	1,000
PRX2	68	0,575	0,235	0,593
PGI1	72	0,000	0,000	0,000
PGI2	65	0,442	0,354	0,200
GOT1	65	0,530	0,169	0,683
ACP1	62	0,417	0,145	0,654
GTD1	72	0,000	0,000	0,000
DIA1	72	0,000	0,000	0,000
Polimórficos	67,3	0,376	0,169	0,551
Todos	69,2	0,226	0,101	0,552

Tabela 8 – Diversidade Genética (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (F) para os locos polimórficos comuns entre indivíduos jovens e adultos em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Locos	Adultos			Jovens		
	H_e	H_o	F	H_e	H_o	F
MDH-1	0,371	0,24	0,353	0,265	0,111	0,582
EST-1	0,065	0,022	0,658	0,028	0	1
PRX-2	0,593	0,241	0,594	0,575	0,235	0,593
GOT-1	0,493	0,295	0,402	0,53	0,169	0,683
ACP-1	0,571	0,32	0,44	0,417	0,145	0,654
Todos	0,4186	0,2236	0,466	0,363	0,132	0,636

5.4- ANÁLISE DE AUTOCORRELAÇÃO ESPACIAL

A análise de autocorrelação espacial mostrou que há autocorrelação positiva significativa (95%) no valor de I (índice de Moran) para a primeira classe de distância (Tabela 9 e Figura 8). Observou-se, também, autocorrelação negativa significativa para a sétima e a décima primeira classes de distância. Estes resultados indicam haver estrutura genética espacial entre os indivíduos distantes até 19 m. Há também uma tendência de estruturação que vai até os indivíduos distantes a 76 m. Dessa forma, o grau de parentesco dos indivíduos aumenta conforme diminui a distância entre eles.

Tabela 9 – Tabela de correlação intervalos de confiança para 8 locos analisados em 12 classes de distâncias e intervalos de confiança em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

Classes de Distância	D(- IC)	D(obs.)	D(+ IC)
0-19	-0,038	0,027*	0,026
19-38	-0,028	0,011	0,014
38-57	-0,024	0,006	0,009
57-76	-0,023	0,007	0,007
76-95	-0,023	-0,014	0,007
95-114	-0,023	-0,017	0,008
114-133	-0,023	-0,025*	0,008
133-152	-0,024	0,003	0,010
152-171	-0,028	-0,012	0,012
171-190	-0,032	-0,009	0,016
190-209	-0,033	-0,051*	0,018
209-228	-0,045	-0,021	0,027

* significativo (< 5%)

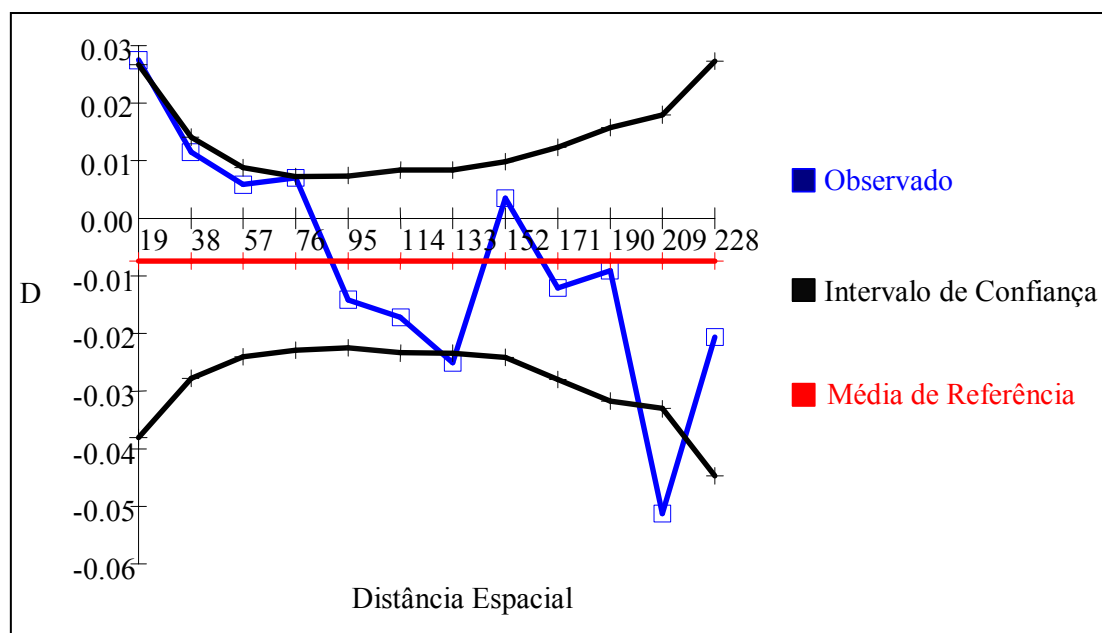


Figura 8 – Correlograma para 8 locos analisados em 12 classes de distâncias em uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

5.5- FENOLOGIA REPRODUTIVA

Foram avaliados 36 indivíduos adultos de *O. porosa* na área da parcela entre os meses de agosto de 2005 e outubro de 2006, sendo que todos apresentaram comportamento reprodutivo nos dois anos avaliados. No ano de 2005, a emissão dos botões iniciou no mês de setembro, sendo que em 2006 ela se deu no mês de agosto (Figura 8). Nos dois anos a emissão de botões florais foi precedida pelo começo de brotação foliar. Tanto em 2005 quanto em 2006, o pico de botões florais ocorreu no mês de outubro (Figura 8). Em 2005 a floração teve início no mês outubro indo até o mês de dezembro, com maior intensidade em novembro. Já no ano de 2006, a floração teve início no começo de setembro continuando até a última avaliação.

No ano de 2005 o pico na intensidade de frutos verdes se deu no mês de novembro, porém houve um grande abortamento de frutos verdes no mês de dezembro, fazendo com que a produção de frutos maduros fosse baixa no ano seguinte (Figura 8). A maturação dos frutos iniciou no mês de fevereiro e os frutos maduros se mantiveram

nas plantas em grande quantidade até o mês de junho. Posteriormente os frutos maduros começam a secar, apresentando perda de turgescência e perda de viabilidade da semente, porém em alguns indivíduos foram encontrados frutos secos até a nova formação de frutos verdes.

Na Figura 9 são apresentados os dados de precipitação média mensal e temperatura média mensal para o Município de Caçador, fornecidos pela Epagri, durante todo o período de avaliação da fenologia reprodutiva.

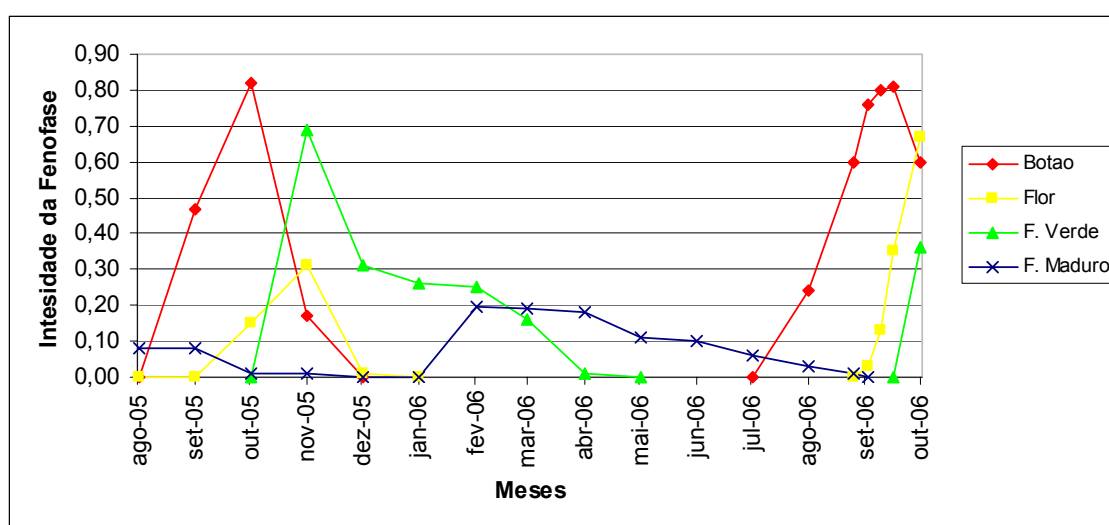


Figura 9 - Comportamento de fenologia reprodutiva de uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador no período de agosto de 2005 a outubro de 2006, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

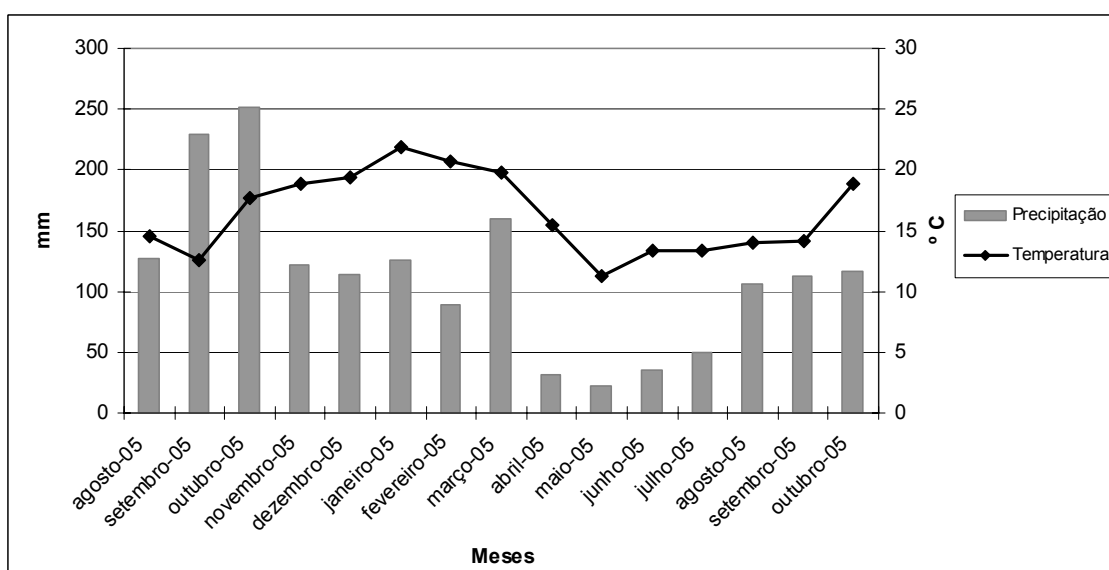


Figura 10 – Precipitação e Temperaturas médias no período de estudo, para o Município de Caçador-SC. Fonte: Epagri – Estação Experimental de Caçador, 2007.

Somente as fenofases Botão e Fruto Verde apresentaram correlação significativa com os dados climáticos. A fenofase de Botão apresentou correlação negativa significativa com a temperatura do período do segundo mês anterior ao evento ($R^2 = -0,51$). Já para Fruto Verde observou-se correlações positivas significativas com a precipitação dos dois meses anteriores ao evento ($R^2 = 0,57$ e $R^2 = 0,56$), com a temperatura do mês do evento ($R^2 = 0,70$) e do mês anterior ($R^2 = 0,68$) e do período de insolação do mês do evento ($R^2 = 0,53$).

Estes resultados indicam alta influência climática na fenofase Botão Verde. Porém, a influência deve se dar na abertura dos botões florais, mas como a amostragem nesse período foi incapaz de detectar o pico de floração no ano de 2005, essa correlação não ficou explicitada.

5.6- OBSERVAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS

Foram contabilizadas 22 horas de observações na floração de 2005 e 7 horas na floração de 2006, totalizando 29 horas. Do total de visitantes florais os grupos predominantes foram os Coleópteros e Dípteros com 35% e 34% das visitas respectivamente, seguidos pelos Lepidópteros com 19%. O período predominante de visitas foi das 08:00 as 12:00, sendo que nesse período predominaram as visitas de Dípteros e Coleópteros, enquanto que as visitas realizadas por Lepidópteros foram todas entre as 18:00 e as 24:00 (Figura 11).

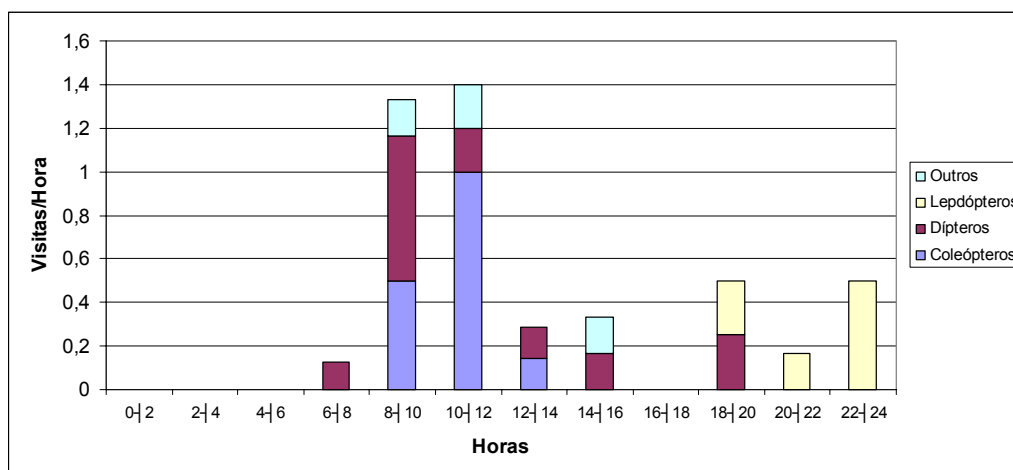


Figura 11 Visitantes florais de *O. porosa* observados em indivíduos localizados na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

6- DISCUSSÃO

6.1- DEMOGRAFIA

6.1.1- Adultas

A população de *O. porosa* estudada apresentou uma alta densidade de indivíduos reprodutivos (27,1 indivíduos/ha), um número elevado quando comparado com dados encontrados na literatura. Foram encontrados em levantamentos demográficos de várias espécies da comunidade florestal em fragmentos de Floresta Ombrófila Mista, valores de densidade de *O. porosa* de 9,2 indivíduos/ha (DAP > 20cm) em nove parcelas de 1 ha (Schaaf *et al.* 2006), 10,0 indivíduos/ha (DAP > 10cm) em três parcelas de 1 ha e uma de 0,5 ha (Canalez, Dalla Corte & Sanquetta, 2006), 13,0 indivíduos/ha (DAP >= 10cm) em 16 parcelas de 600 m² (Formento, Schorn & Ramos, 2004) e 8,9 indivíduos/ha (DAP > 10cm) em três parcelas de 1 ha e uma de 0,5 ha (Sanquetta *et al.*, 2001).

As diferenças obtidas do presente trabalho em relação aos demais pode ser explicada pelo fato da Floresta Ombrófila Mista ser marcada por associações distintas

entre *A. angustifolia* e diversos tipos de sub-matas distintas (Klein, 1978). Como a Reserva Genética Florestal de Caçador situa-se em uma região de associação de *A. angustifolia* principalmente com *O. porosa*, *Ilex paraguariensis* e *Sloanea lariocoma* uma densidade maior de indivíduos de *O. porosa* era esperada.

Porém, Caldato, Longhi & Floss (1999) obtiveram, na mesma Reserva do presente trabalho, uma densidade de 16,0 indivíduos/ha. Essa diferença pode ser resultante da grande variação de micro-ambientes que é característica da Floresta Tropical Atlântica. Nesse sentido, Reitz, Klein & Reis (1978), já relatam essa grande variação existente ao afirmarem que são comumente encontrados de 6 a 20 indivíduos adultos de *O. porosa* por hectare.

O diâmetro médio encontrado para os indivíduos reprodutivos de 51 cm, tendo indivíduos com mais de 140 cm, reflete o grande porte a que podem chegar os indivíduos dessa espécie. Reitz, Klein & Reis (1978) afirmam que a espécie apresenta diâmetro a altura do peito entre 50 e 150 cm, podendo esse valor ultrapassar 200 cm, conforme indicam Caldato, Longhi & Floss (1999). Canalez, Dalla Corte & Sanquetta (2006), estudando a dinâmica da comunidade de Lauráceas em um fragmento florestal no Estado do Paraná obtiveram um DAP médio para *O. porosa* de 36,1 cm.

O elevado DAP médio encontrado neste trabalho, juntamente com a presença de indivíduos com DAP maior que 100 cm, também pode estar refletindo o grau de conservação no qual se encontra esse fragmento florestal, pois a *O. porosa* apresenta um crescimento muito lento (Carvalho, 1994) e segundo Reitz, Klein e Reis (1978) exige um ambiente florestal mais avançado para o seu estabelecimento com suas plântulas crescendo preferencialmente em ambiente de sombra e de umidade do ar elevada. Aliado a isso, para *O. pulchella* foram estimadas idades acima de 60 anos para indivíduos com DAP sem casca a partir 26 cm (Spathelf *et al.*, 2000), sendo que,

segundo Francisco & Galetti (2002) a espécie pode ser considerada como de fase intermediária na sucessão secundária. Espécies caracteristicamente secundárias geralmente apresentam crescimento mais acelerado que espécies consideradas climácicas, como a *O. porosa*, o que sugere que *O. pulchella* apresenta um crescimento muito mais rápido que a *O. porosa*. Esse fato reforça a hipótese que muitos dos indivíduos adultos de *O. porosa* presentes na área possuem idades muito avançadas.

Apesar de apresentar uma concentração de indivíduos nas primeiras classes, a distribuição dos indivíduos de *O. porosa* em classes diamétricas não tende a uma curva em “J-invertido”, pois as duas primeiras classes apresentam um número menor de indivíduos em relação à terceira, o que indica haver um gargalo na regeneração da espécie. Resultados semelhantes foram obtidos Canalez, Dalla Corte & Sanquetta (2006) em um estudo sobre a dinâmica da estrutura da comunidade de Lauráceas no Estado do Paraná, onde apontam que a *O. porosa* apresenta distribuição diamétrica com poucos indivíduos nas classes menores. Também, Caldato, Longhi & Floss (1999), em um levantamento realizado na mesma Reserva Genética em Caçador, indicam que a *O. porosa* apresenta uma curva com tendência à distribuição normal dos indivíduos adultos, indicando descontinuidade na regeneração. Essa descontinuidade na regeneração pode ser fruto do estado no qual se encontra a floresta, pois segundo Klein (1963), nos estádios mais avançados de sucessão a *O. porosa* apresenta maior número de árvores adultas e senescentes do que indivíduos jovens.

Da mesma forma, Schaaf *et al.* (2006), em um acompanhamento realizado no Estado do Paraná, relatam que no ano de 1979, *O. porosa* possuía 28,4% dos indivíduos com DAP maiores que 50 cm, apresentando uma curva de distribuição de frequências tendendo a um “J-invertido”. Em uma reavaliação, no ano 2000, os autores observaram que 42,15% dos indivíduos encontravam-se acima de 50 cm de DAP, sendo que a

distribuição das frequências passou a apresentar um padrão tendendo a uma curva normal. Kageyama *et al.* (2003) também relatam que a espécie congênere, *O. odorifera*, apresentou um padrão de distribuição similar, onde, apesar dos indivíduos apresentarem baixos diâmetros, em um fragmento de 166 ha, que apresentou os maiores indivíduos, a espécie apresentou distribuição normal, enquanto que no fragmento de 30 ha a distribuição tendia a um “J-invertido”.

Desse modo, pode-se afirmar que, conforme a sucessão vai avançando, a floresta deve atingir um estágio onde poucos locais apresentam condições ambientais favoráveis ao recrutamento de indivíduos de *O. porosa* que se apresentam em um determinado estágio de desenvolvimento. De acordo com Inoue *et al.* (1984), esse estágio de desenvolvimento deve estar ligado a uma possível mudança de comportamento com relação à luminosidade.

Nesse sentido, Lamprecht (1990) sugere, em uma de suas hipóteses para explicar as estruturas irregulares de diâmetros em florestas tropicais higrófilas, que a falta de descendentes para a espécie é apenas aparente, decorrente do desenvolvimento específico da mesma, sendo o número de plantas jovens suficiente para garantir a conservação em longo prazo da espécie. É o que ocorre quando poucos indivíduos superam a fase juvenil e encontram condições ambientais favoráveis para concretizar o recrutamento, quando passam por um período relativamente curto de intenso crescimento em altura, atingindo o estrato superior, onde passam a afirmar sua posição dominante durante um período muito longo. Esse baixo recrutamento foi observado por Canalez, Dalla Corte & Sanquetta (2006), que registraram em uma área de 3,5 ha o recrutamento de somente um indivíduo de *O. porosa*, atingindo 10 cm de DAP, durante o período de 10 anos.

Caldato, Longhi & Floss (1999) também levantam a hipótese de que o equilíbrio demográfico da *O. porosa* pode estar relacionado ao fato da espécie apresentar regeneração por meio de brotações. A emissão de brotos enquanto a árvore ainda se encontra viva, possibilita uma reposição mais rápida nas classes diamétricas maiores, pois quando um indivíduo se encontra em fase de senescência, há um ou mais brotos ao lado para o substituírem, já com maiores dimensões e, portanto, tendo superado as fases mais críticas pelas quais passam os indivíduos jovens. Além disso, com a morte aparente da árvore matriz, os brotos terão maior disponibilidade de luz e poderão fazer uso de grande parte do sistema radicular da mesma, fazendo com estes tenham um incremento acelerado.

Apesar de neste trabalho não terem sido realizadas avaliações para determinar a dominância da espécie na área, tomando por base o trabalho de Sanquetta *et al.* (2001), onde, apesar de apresentar uma densidade de apenas 8,9 indivíduos/ha a *O. porosa* foi a segunda espécie mais dominante, é esperado que na área do presente estudo a *O. porosa* seja também uma das dominantes, visto seus altos valores de abundância e DAP. Essa expectativa corrobora com a afirmação de Reitz, Klein & Reis (1978) que no Norte do Estado de Santa Catarina, foi a árvore mais importante depois da *A. angustifolia*, imprimindo a fisionomia à paisagem.

6.1.2- Jovens

Longhi (1980) e Da Croce (1991) afirmam que, apesar da dominância na fase adulta, a *O. porosa* não se encontra entre as espécies mais abundantes na regeneração natural da floresta. Por outro lado, Inoue *et al.* (1984) afirmam que a espécie possui intensa regeneração natural no interior da floresta, justificada pela sua abundante frutificação. A densidade média obtida no presente trabalho para as plantas jovens foi de

532 indivíduos/ha, ainda que com alta variação na área de estudo ($s= 416,6$). Caldato, Longhi & Floss (1999) obtiveram uma densidade de plantas até 2 m de altura de 19,8 indivíduos/ha, um valor muito inferior ao encontrado na área de estudo, visto que levando-se em consideração somente os indivíduos menores que 2 m de altura a densidade média estimada é de 526,7 indivíduos/ha ($s= 419,3$).

Avaliando a distribuição de freqüências em classes de altura, nota-se também que há uma maior freqüência de indivíduos nas menores classes, indicando uma tendência de distribuição do tipo “J-invertido” e que *O. porosa* utiliza a estratégia de formação de banco de plântulas. Desse modo, a espécie apresenta potencial de recrutamento dos indivíduos jovens presentes no banco de plântulas ao longo do tempo. Esse mesmo padrão de distribuição tendendo a um “J-invertido” foi encontrado para *O. porosa* por Caldato, Longhi & Floss (1999). Tal padrão de distribuição corrobora com a afirmação de Inoue *et al.* (1984) que as mudas novas desenvolvem-se satisfatoriamente no ambiente pouco iluminado, porém, são poucos os indivíduos que sobrevivem, pois é raro encontrar indivíduos maiores (acima de 1 metro), indicando uma provável mudança de comportamento em relação à tolerância à luz.

Apesar da grande divergência na densidade dos indivíduos jovens de *O. porosa*, observa-se que o erro padrão diminui drasticamente quando é analisada a distribuição percentual dentro das classes de altura (Figura 3). Essa diferença deve-se ao fato de que a diferença na densidade média entre as três parcelas foi muito grande, porém a tendência de distribuição nas classes de altura é mais similar. Do mesmo modo, quando comparados os valores de densidade com os obtidos por Caldato, Longhi & Floss (1999) a diferença é muito grande, porém o padrão de distribuição nas classes de altura é semelhante. Ou seja, apesar das diferenças ambientais em pequena escala terem

grandes efeitos sobre a densidade dos indivíduos jovens, a tendência a uma distribuição do tipo “J-invertido” nos indivíduos jovens é mantida.

Analisando conjuntamente os dados demográficos dos indivíduos adultos e jovens pode-se constatar que há um gargalo, caracterizado pela descontinuidade na regeneração de *O. porosa* (Figura 8). Considerando os indivíduos que apresentam mais de 1,8 metros de altura e DAP inferior a 10 cm como uma classe diamétrica (0 | 10), essa apresentaria uma média de 13,3 indivíduos/ha. Essa densidade é bem maior que a apresentada pelos indivíduos adultos na classe (10 | 20 – Tabela 2) e até na classe (20 | 30 – Tabela 2). Porém observa-se também que nos indivíduos jovens a penúltima classe de altura (2,1 | 2,4 – Tabela 3) não apresentou nenhum indivíduo e que os indivíduos que geraram a frequência de 4 indivíduos/ha na última classe de altura apresentaram alturas entre 2,9 m e 3,7 m, sendo que nenhum apresentou DAP superior a 1,5 cm.

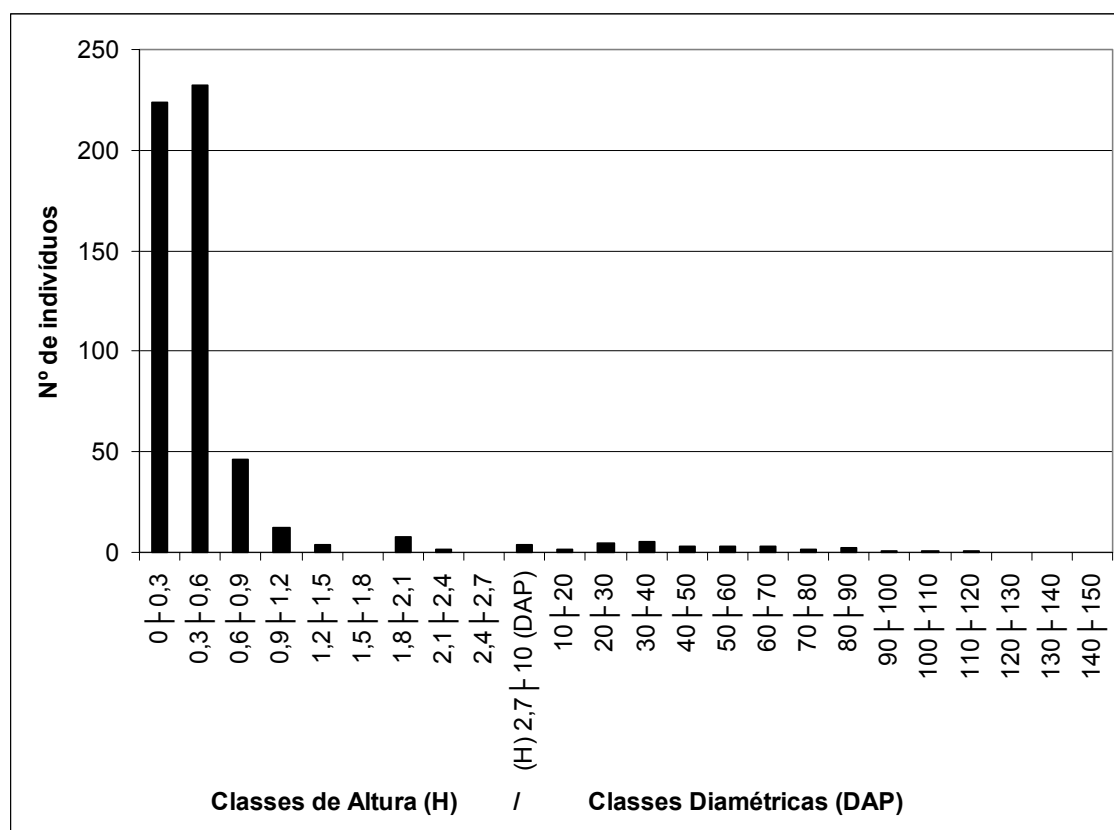


Figura 8- Distribuição de frequência em classes de altura e diamétricas, respectivamenete para indivíduos jovens e reprodutivos por hectare de uma população de *O. porosa* na Reserva Genética de Caçador, NPFT- RGV – UFSC, 2007.

A mudança de comportamento com relação à luminosidade citada por Inoue *et al.* (1984) a partir de determinado estágio de desenvolvimento pode ser um dos fatores responsáveis por essa descontinuidade na regeneração. Os indivíduos jovens se mantêm em quantidade suficiente para manter a reposição dos indivíduos maiores até determinado estágio de desenvolvimento e ao chegar nesse estágio, que deve ser entre 1 e 3 m de altura, se o indivíduo jovem não encontrar condições ambientais favoráveis ao seu recrutamento ele morre. Por outro lado, se este encontrar um ambiente favorável ao seu recrutamento, ele passa por um período de rápido crescimento que deve ser desacelerado quando o mesmo atinge por volta dos 20 cm de DAP.

6.2- DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL

O padrão de distribuição espacial encontrado para *O. porosa* foi similar ao encontrado por Condit *et al.* (2000) para a maioria das espécies arbóreas tropicais, onde a tendência é uma distribuição mais agregada do que aleatória. Armesto *et al.*, (1986), comparando o padrão espacial de espécies arbóreas em oito florestas temperadas e tropicais, também concluíram que o padrão agrupado foi predominante em florestas tropicais.

Tarazi (2006) encontrou valores de agregação semelhantes para indivíduos adultos de quatro populações de *O. catharinensis* e similares aos valores encontrados para os indivíduos adultos de *O. porosa*. O autor sugere que a síndrome de dispersão zoocórica, realizada por primatas contribui para o padrão agregado de distribuição encontrado. Segundo Carvalho (1994) a *O. porosa* também apresenta mamaliocoria, podendo esta também estar influenciando o padrão de distribuição espacial de *O.*

porosa. A barocoria também pode ser responsável pelo padrão agregado de distribuição. Com os propágulos caindo perto das plantas-mãe há uma tendência de haver agrupamento de plântulas perto destas, desde que não haja dispersão secundária significativa.

Contrastando o padrão de distribuição espacial dos indivíduos adultos e jovens, é possível observar que nos indivíduos adultos a tendência de agregação é menor, principalmente quando comparados os indivíduos adultos com os indivíduos jovens da Parcela C.

Pode-se observar também um padrão de agregação mais acentuado em A e C, contrastando com B (agregação não significativa a 1 %). Este resultado aliado aos dados de densidade e altura médias de plantas reforça que os níveis de agregação diminuem conforme os indivíduos vão se desenvolvendo.

Esse padrão pode estar ligado à dispersão restrita e às teorias de Janzen e Connell. A dispersão para os indivíduos de *O. porosa* sendo restrita, pode fazer com que os indivíduos jovens se estabeleçam de forma bastante agregada próximos à planta mãe. Porém essa proximidade à planta mãe deve expor os indivíduos jovens a altas taxas de mortalidade. Com a mortalidade dos indivíduos que se encontram fortemente agrupados, os níveis de agregação tendem a diminuir. Contudo tal aspecto não foi abordado neste trabalho, merecendo estudos adicionais e de longo prazo.

6.3- AUTOCORRELAÇÃO ESPACIAL

Foi constatada a existência de autocorrelação positiva significativa (95%) no valor do Índice *I* de Moran para a primeira classe de distância, 19 metros, porém os valores de correlação são positivos e muito próximos do limite superior do intervalo de confiança até a classe de 76 metros, mostrando uma tendência de que os indivíduos

mais próximos sejam aparentados. Estruturação genética em curtas distâncias dentro de populações tem sido verificada para outras espécies da Família Lauraceae. Em um fragmento de 166 ha no Estado de São Paulo a espécie congênere, *O. odorifera*, apresentou uma tendência à estruturação genética espacial entre as distâncias de 35 m a 74 m e distribuição aleatória dos genótipos nas demais (Kageyama *et al.*, 2003). Também no Estado de São Paulo, uma população de outra espécie da Família Lauraceae, *Cryptocarya moschata*, apresentou estruturação genética espacial a pequenas distâncias, indicando que os indivíduos distanciados até 150 m devem ser aparentados (Moraes, Monteiro & Vencovsky, 2004).

Essa similaridade genética entre os indivíduos mais próximos pode ser um resultado da ação dos vetores de polinização de *O. porosa*, basicamente pequenos Coleópteros e Dípteros, que devem promover um fluxo de pólen a curtas distâncias. Além disso, a dispersão de diásporos preponderantemente por gravidade sob a planta-mãe gerando um recrutamento de indivíduos aparentados à curta distância é apontada por Moraes, Monteiro e Vencovsky (2004) como uma das possíveis causas da existência de estruturação a curtas distâncias. A dispersão restrita de propágulos pode ser igualmente, um dos causadores da estruturação na população de *O. porosa*, sendo que seriam necessários estudos sobre o padrão de dispersão da espécie e a ação dos vetores e dispersão e polinização para dar mais consistência a essa hipótese.

A possibilidade de cruzamento entre aparentados e inclusive de autofecundação também poderia contribuir fortemente para a existência desta maior semelhança entre os indivíduos mais próximos e formação de estrutura familiar nas populações naturais da espécie.

A sobreposição de gerações também pode estar contribuindo para a estruturação genética espacial encontrada. Como a *O. porosa* apresenta um longo ciclo de vida, há

uma grande probabilidade de indivíduos que se estabeleceram perto da planta mãe estarem cruzando com sua genitora ou outros parentes próximos.

Segundo Sebbenn (2006), as populações de espécies arbóreas são muitas vezes estruturadas em famílias, formando subpopulações onde as frequências alélicas tendem a ser homogêneas dentro das subdivisões, e o grau de parentesco dentro destas está acima do pressuposto de distribuição aleatória dos genótipos. Essa presença de estruturação a pequenas distâncias, ajuda a explicar a alta diversidade genética encontrada apesar dos altos índices de endogamia, pois grande parte da diversidade genética deve ser fruto da divergência entre os agrupamentos.

Conforme a distância entre os indivíduos vai aumentando, os valores de autocorrelação caem e se tornam negativos, indicando que há distribuição aleatória dos genótipos no espaço. O valor significativo de autocorrelação negativa existente na classe de distância de 209 metros indica que os indivíduos que se localizam a essa distância apresentam alta divergência, sendo que esse poderia ser um valor de referência para a espécie quando o intuito for detectar o máximo de variabilidade genética para os diversos fins.

A classe em que o correlograma troca de sinal (cruza o eixo X) é a classe que vai de 76 a 95 m (+- 85 m). Esse ponto é considerado como uma estimativa do diâmetro da área em que os indivíduos se assemelham (Sokal & Wartenberg, 1983). Tomando por base a densidade encontrada na área, o tamanho de vizinhança para a área é de aproximadamente 62 indivíduos. A troca de alelos entre os indivíduos presentes dentro desse tamanho de vizinhança se dá de forma aleatória. Uma redução nesse número de indivíduos levaria ao aumento dos efeitos de deriva genética, com grandes riscos de perda dos alelos menos frequentes, ocasionando uma redução na diversidade genética.

6.4- FENOLOGIA REPRODUTIVA

Todos os indivíduos acompanhados apresentaram comportamento reprodutivo durante o período de avaliação. Os padrões fenológicos da *O. porosa* podem ser considerados regulares anuais, ocorrendo no mesmo período nos dois anos em todos os indivíduos. Houve também sincronismo durante as diferentes fenofases, exceto na fase de fruto maduro, onde algumas plantas apresentavam frutos por períodos superiores a sete meses.

O início da emissão de botões variou de setembro em 2005 para agosto em 2006, sendo que o pico de presença de botões florais foi em outubro para os dois anos avaliados, porém em 2005 o pico foi no final do mês enquanto que em 2006 foi no começo da segunda quinzena. Apesar disso, a presença de botões florais não apresentou nenhuma correlação significativa com precipitações e temperaturas médias mensais para o mês da fenofase e os dois meses anteriores a mesma.

A floração, em 2006, seguiu o padrão dos botões e teve o seu início antecipado em um mês. O início da floração ocorreu no mês de outubro, enquanto que no ano de 2006 o início da floração foi registrado no mês de setembro.

O período de floração é curto, aproximadamente um mês, sendo que no ano de 2005, apenas um indivíduo apresentou flores de outubro até dezembro. O período de floração observado é semelhante ao indicado por Reitz, Klein & Reis (1978) que afirmam que a espécie floresce no Estado de Santa Catarina principalmente entre os meses de outubro a dezembro.

O sincronismo na floração pode ser uma estratégia para favorecer a atração dos polinizadores, facilitando o fluxo gênico via pólen (Marquis 1988). Porém, através da observação dos visitantes florais durante duas florações, foi possível notar que, mesmo com o sincronismo da floração, o número de visitas das flores foi baixo. O

sincronismo na floração também pode reforçar a hipótese que há autofecundação na espécie, pois a fenologia poderia ser responsável por algum tipo de cruzamento preferencial, porém, com o sincronismo todos os indivíduos estão aptos a cruzarem entre si, com o comportamento dos polinizadores sendo o principal responsável pelo padrão dos cruzamentos.

A baixa frequência de visitantes florais pode ser decorrente da eventual ausência dos mesmos no local. Um aprofundamento de estudos da ecologia de polinização da espécie poderia esclarecer este aspecto.

A passagem da fase de botão para fruto verde é rápida, o que fez com que o momento de maior intensidade de flores em antese não tenha sido registrado em 2005, devido às avaliações serem mensais. Devido a essa rápida passagem pela fase de flor em antese, no ano de 2006 as avaliações foram semanais a partir do início da emissão de botões florais.

Durante o presente trabalho só foi possível avaliar um ano de frutos verdes. O pico na intensidade de frutos verdes ocorreu no mês de novembro de 2005, logo após o pico da floração. No entanto, no mês de dezembro, os frutos verdes passaram por um período de intenso abortamento com redução de mais de 50% da intensidade da fenofase. Stephenson (1981), afirma que o crescimento dos frutos da maioria das espécies segue um padrão sigmoidal, sendo que o aborto em muitas espécies ocorre geralmente no momento anterior à fase de intenso crescimento dos frutos. Há relatos na literatura de outras espécies do gênero *Ocotea* que apresentam alternância de produção, chegando a ficar até quatro anos sem produção efetiva de frutos. Porém, como a *O. porosa* produziu uma floração intensa no ano de 2005, é provável que a baixa visitação de polinizadores observada para a espécie no período de floração seja um dos motivos principais esse abortamento.

Em decorrência do grande abortamento de frutos verdes ocorrido em dezembro de 2005, a produção de frutos maduros subsequente foi baixa. A maturação teve início no mês de fevereiro de 2006, tendo nos meses de fevereiro, março e abril, a maior intensidade da fenofase. Do mesmo modo, Reitz *et. al* (1978) relatam a ocorrência de frutos maduros a partir de fevereiro no Estado do Paraná e Carvalho (1994) aponta que a espécie frutifica de abril a maio no Rio Grande do Sul.

Os frutos maduros se mantiveram nas plantas em quantidade relativamente alta até o mês de junho. Posteriormente, foi possível notar que os frutos que ainda não tinham sido dispersados começaram a secar, no entanto em alguns indivíduos, eram encontrados frutos secos até a nova formação de frutos verdes. Esse período de disponibilidade de frutos maduros é similar ao relatado por Morellato *et al.* (2000) para um conjunto de espécies, em um trabalho sobre fenologia reprodutiva e de mudança foliar de espécies em Floresta Pluvial Atlântica no Estado de São Paulo. Estes autores afirmam que durante os meses de março a agosto, um grande número de espécies produziu frutos. Do mesmo modo, Mantovani (2003) observou em *A. angustifolia*, que apresenta a mesma área de ocorrência da *O. porosa*, que o período de oferta de sementes começou em março e terminou entre maio e julho, dependendo do ano.

Por outro lado, Krügel, Burger & Alves (2006) observaram que na Floresta Estacional Decidual a espécie *Nectandra megapotamica* apresenta frutos maduros entre dezembro e início de fevereiro, com pico de frutificação em janeiro. Da mesma forma, Francisco & Galetti (2002) indicam que na região Central do Estado de São Paulo foram encontrados frutos maduros de *O. pulchella* entre os meses de agosto e outubro. Diante disso, considerando que essas espécies da Família Lauraceae ocorrem na Floresta Ombrófila Mista, se os padrões de frutificação se mantiverem, a disponibilidade de frutos para a fauna dispersora é estendida, pois, quando uma espécie

cessa a disponibilidade de frutos a outra entra no pico de maturação. Este aspecto possibilitaria uma garantia de presença da fauna dispersora, contudo a manutenção de frutos por longo período, observada, sugere que pode haver deficiência na fauna dispersora.

De qualquer forma há necessidade de ampliar o tempo de observação (mais ciclos), bem como realizar estudos específicos em relação aos dispersores para conclusões mais consistentes.

6.5- DIVERSIDADE GENÉTICA

A porcentagem de locos polimórficos ($P_{100\%}$) para a população foi de 75% para os indivíduos reprodutivos e 60% para os indivíduos jovens, valores similares aos obtidos por Hamrick & Godt (1989) para espécies da zona temperada-tropical ($P=58,8\%$) e para espécies arbóreas com longo ciclo de vida ($P=64,7\%$), assim como aos valores encontrados por Kageyama *et al.* (2003) para *O. odorifera* ($P_{95\%}=67,8\%$), por Tarazi (2006) para *O. catharinensis* ($P_{95\%}=77,8\%$). A estimativa de P também foi similar à encontrada por Bittencourt *et al.* (em preparação) para *O. porosa* ($P_{95\%}=81,1\%$) em seis populações no Estado de Santa Catarina, sendo que para a população localizada na mesma área estudada, o valor de $P_{100\%}$ foi de 73,3%.

O número de alelos por loco, $A=2,6$ para os indivíduos reprodutivos e $A=2,1$ para os indivíduos jovens, foi igualmente similar aos encontrados para *O. odorifera* – $A=2,36$ (Kageyama *et al.*, 2003a), para *O. catharinensis* – $A=2,6$ (Tarazi, 2006), para *Cryptocarya aschersoniana* – 2,74 (Moraes & Derbyshire, 2002) e aos obtidos por Hamrick & Godt (1989) para espécies da zona temperada-tropical – 2,53 e para espécies arbóreas de longo ciclo de vida – 2,19.

A diferença encontrada no número de alelos por loco entre os indivíduos reprodutivos e os jovens pode ser explicada em parte pela amostragem, principalmente devido ao fato de que os alelos presentes nos indivíduos reprodutivos que não estão presentes nos jovens apresentam frequência baixa (MDH1-4 – 0,8%, EST2-1 – 3,0%, PRX2-1 – 4,7%, ACP1-2 – 14,1% e DIA1-2 – 5,8%). Ainda, além da diferença no tamanho da amostra, é necessário ressaltar que a amostragem dos indivíduos adultos foi realizada em 5,1 ha, enquanto que a amostragem dos indivíduos jovens foi realizada em 0,25 ha, ou seja, a amostragem dos jovens foi espacialmente mais concentrada.

A diversidade genética estimada para os indivíduos reprodutivos foi de 0,274 e para os jovens foi de 0,226. Esses valores são menores que os estimados por Kageyama *et al.*, (2003) para de *O. odorifera* ($H_e = 0,360$) e que os estimados por Tarazi, (2006) para *O. catarinensis* ($H_e = 0,313$). No entanto, Hamrick & Godt (1989) obtiveram médias de diversidade de 0,170 para espécies da zona temperada-tropical e de 0,177 para espécies arbóreas de longo ciclo de vida e Bittencourt *et al.* (em preparação) obtiveram em seis populações de *O. porosa* no Estado de Santa Catarina uma média de 0,247, desse modo pode-se assumir que a diversidade genética para os indivíduos jovens e reprodutivos de *O. porosa* estudados é alta.

Os valores de H_o foram inferiores aos valores de H_e tanto para os indivíduos reprodutivos quanto para os indivíduos jovens, indicando um expressivo excesso de homozigotos.

Os índices de fixação obtidos para os indivíduos reprodutivos e jovens, 0,537 e 0,552 respectivamente, sugerem estar ocorrendo altos níveis de cruzamentos entre aparentados. Esses cruzamentos entre aparentados ou endogamia, tendem, ao longo do tempo, promover um aumento da homozigose e redução da riqueza alélica, resultando na fixação de determinados alelos por deriva genética.

Bittencourt *et al.* (em preparação), em um trabalho de diversidade genética com seis populações de *O. porosa* no Estado de Santa Catarina estimaram para a mesma área do presente estudo um índice de fixação de -0,059. Essa grande diferença entre as estimativas deve ser decorrente da amostragem e da estruturação genética espacial existente na espécie. Enquanto no presente trabalho foram caracterizados todos os indivíduos reprodutivos presentes em uma área de 5,1 ha, no trabalho citado foram coletados cerca de 50 indivíduos ao longo de toda a Unidade de Conservação, respeitando uma distância mínima de 50 metros entre plantas. A análise da autocorrelação espacial para os indivíduos adultos demonstrou haver uma estruturação significativa positiva para indivíduos distanciados até 19 m e tendência de estruturação genética espacial entre os indivíduos distanciados até 76 m. A existência de correlação espacial implica em não-independência entre os elementos da amostra, podendo causar sérios vieses nas estimativas de importantes parâmetros genéticos, incluindo o nível de endogamia da amostra (Epperson, 2000). Essa estruturação genética, juntamente com a pequena distância existente entre os indivíduos, pode explicar, em parte, a grande diferença obtida para os índices de fixação obtidos no presente trabalho e por Bittencourt *et al.* (em preparação), pois a distância mínima estabelecida entre os indivíduos por Bittencourt *et al.* (em preparação) faz com que a amostragem escape da estrutura familiar.

Do mesmo modo, outra hipótese para o alto nível de endogamia encontrado na população é a ocorrência de autofecundação, ainda que possivelmente parcial (cruzamento misto). Os indivíduos jovens apresentaram índices de endogamia maiores que os dos indivíduos reprodutivos, um dos efeitos da autofecundação. Igualmente, foi possível observar uma grande quantidade de indivíduos apresentando todos os locos estudados em homozigose, o que é uma tendência natural de organismos que possuem

autofecundação. Neste estudo 57% dos indivíduos jovens apresentaram todos os locos homozigotos, enquanto que 27% dos indivíduos adultos apresentaram homozigose para todos os locos, quando avaliados somente os locos comuns entre jovens e adultos. Se o índice de endogamia for calculado somente baseado nos locos comuns entre indivíduos jovens e adultos é possível, ainda, perceber uma grande diferença nos índices para as duas classes com os adultos apresentando um índice de fixação de 0,466 e os jovens de 0,636. O aumento do índice de fixação e do percentual de indivíduos completamente homozigotos nos indivíduos jovens em relação aos adultos sugerem também que a espécie apresenta autocompatibilidade, e sistema reprodutivo com cruzamentos mistos. Além disso, é provável que durante o recrutamento das plantas deve haver algum tipo de seleção em favor dos heterozigotos ou contra homozigotos que faz com que os indivíduos reprodutivos mantenham um percentual de indivíduos totalmente homozigotos e um índice de endogamia menor que o dos jovens mesmo após várias gerações de cruzamentos endogâmicos.

O pólen é provavelmente o vetor dominante da troca de gametas em muitas espécies arbóreas tropicais (Sebbenn, 2006). Durante o presente estudo, também foram contabilizadas mais de 40 horas de observação de polinizadores, o que nos permitiu identificar que a maior parte dos visitantes florais da *O. porosa* são pequenos Coleópteros e Dípteros, diferentemente do predito por Caldato, Longhi & Floss (1999) que afirmam que as flores da *O. porosa* são muito atrativas para abelhas. Essa presença predominante de pequenos Coleópteros e Dípteros pode estar promovendo um fluxo de pólen a pequenas distâncias. Apesar da constatação que a espécie apresenta protoginia e que o pólen é muito grudento, sugerindo necessidade de um vetor, também foi possível verificar que os visitantes florais observados visitavam várias flores da mesma planta em seqüência, indicando a possibilidade de geitonogamia, reforçando a hipótese de que

a espécie apresenta autofecundação. Moraes & Monteiro (2002) relatam que a espécie *Cryptocarya moschata*, também uma Lauraceae, apresenta autocompatibilidade, podendo este ser outro indício de que a autofecundação é possível para a *O. porosa*. Há a necessidade, portanto, de estudos complementares sobre o sistema reprodutivo para preencher esta lacuna e ajudar no entendimento de como é dada a transmissão dos alelos entre as gerações em populações de *O. porosa*.

O aumento dos índices de endogamia nas gerações atuais também pode ser fruto da ausência de vetores de fluxo gênico a longa distância. A área da Reserva Genética pode não ter um tamanho que permita que a comunidade vegetal seja suficientemente atrativa para polinizadores e dispersores de longa distância ou até mesmo pode não apresentar condições de manter populações viáveis dos mesmos.

Por outro lado, a estratégia de emissão de brotos, que na área de estudo, muitas vezes ocupam o lugar deixado pelas plantas matrizes que morrem, pode ser um dos fatores que também contribuem para a manutenção da alta taxa de diversidade genética encontrada, mesmo com os altos índices de endogamia presentes na população. Através da propagação vegetativa os indivíduos garantem a transmissão dos seus alelos sem que estes sofram os efeitos de endogamia gerados pela autofecundação ou pelo cruzamento entre aparentados.

7- IMPLICAÇÕES PARA A CONSERVAÇÃO

Para a sua efetiva conservação, *O. porosa* necessita de grandes áreas, visto que apresenta estrutura familiar com altos índices de endogamia, fazendo com que sejam necessários vários grupos familiares para que os efeitos da endogamia e deriva genética não inviabilizem as populações remanescentes no médio-longo prazo. Bittencourt *et al.* (em preparação) observaram frequências alélicas próximas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg quando coletados 49 indivíduos com espaçamento entre eles variando de 50 a 100 m. Considerando que o diâmetro da área de vizinhança estimado neste trabalho foi de aproximadamente 85 m (incluindo 62 indivíduos), cada amostra pode estar representando uma deme, um total de 50 demes seria, supostamente, suficiente para manter em equilíbrio a alta diversidade genética de uma população de *O. porosa*. Desse modo, visto que cada deme ocupa uma área de aproximadamente 2,3 ha, seriam necessários aproximadamente 115 ha para manter uma população de *O. porosa* viável no longo prazo.

Grandes áreas também são essenciais para manutenção de populações viáveis de agentes de polinização e dispersão da espécie. Polinizadores e dispersores responsáveis pelo fluxo gênico à longa distância, que age homogeneizando as sub-populações, atuando contra os efeitos de deriva genética, podem necessitar de grandes áreas para estabelecer suas populações.

Nesse contexto, o efeito da fragmentação florestal na Floresta Ombrófila Mista pode ser dramático para a espécie, pois os fragmentos pequenos podem incluir poucas demes familiares com altos níveis de endogamia e poucos indivíduos, favorecendo a perda da diversidade por deriva genética. Estratégias que favoreçam a conectividade

entre as populações poderiam aumentar o fluxo gênico entre estas, atuando contra os efeitos negativos da deriva genética.

A necessidade de conectividade também é reforçada pela divergência genética entre as populações encontrada por Bittencourt *et al.* (em preparação), onde o F_{ST} foi igual a 0,172. Da mesma forma a presença de alelos exclusivos em cinco das seis populações demonstra que o fluxo gênico entre elas é restrito. A implementação de corredores de fluxo gênico interligando os fragmentos florestais, ou a formação de pequenas populações (ou ilhas) entre os mesmos, visando a sua conectividade, contribuiriam para a manutenção da coesão entre as populações, em termos de fluxo gênico, evitando o declínio populacional em fragmentos menores.

Os resultados do presente trabalho sugerem que o fluxo gênico via pólen de *O. porosa* é restrito a alguns poucos metros. Com isso, o fluxo gênico via sementes se torna elemento chave para a conectividade, fazendo com que a fauna dispersora assuma papel fundamental no fluxo gênico a longa distância de *O. porosa*. Como os frutos da *O. porosa* são relativamente grandes, os vetores de dispersão não devem ser animais muito pequenos e estes podem apresentar dificuldades para atravessar áreas não-florestadas, dificultando a conectividade entre populações através ilhas ou “stepping-stones”. Portanto, para promover a conectividade entre populações de *O. porosa*, indica-se o uso de corredores de fluxo gênico. Estudos sobre os vetores de dispersão e polinização de *O. porosa*, assim como estimativas de taxas de cruzamento e fluxo gênico podem trazer elementos importantes para dar mais consistência a essas medidas.

O recrutamento de indivíduos jovens de *O. porosa* parece ser dependente da existência de ambientes específicos, apresentando regeneração descontínua. Esses ambientes específicos podem ser os mais variáveis, indo desde ambientes com diferentes níveis de fertilidade e umidade do solo até ambientes com diferentes

intensidade e duração de luminosidade. Ressalta-se, portanto, a importância de áreas grandes com floresta bem desenvolvida para que se assegure a presença desses ambientes específicos.

Além disso, também em decorrência da estruturação genética espacial observada para a espécie, deve-se respeitar uma distância mínima de 100 m entre plantas, tanto na coleta de sementes para conservação *ex situ* ou para uso na recuperação de áreas degradadas, quanto na coleta de material para caracterização da diversidade genética. Desse modo, é possível escapar da estrutura familiar, evitando coletar amostras ou sementes de indivíduos fortemente aparentados, permitindo amostrar o máximo possível de diversidade genética.

8- CONCLUSÕES

A *O. porosa* apresenta descontinuidade na regeneração que deve ser decorrência de uma mudança de comportamento com relação à luminosidade a partir de determinado estágio de desenvolvimento. Os indivíduos jovens se mantêm em quantidade suficiente para manter a reposição dos indivíduos maiores até determinado estágio de desenvolvimento e ao chegar nesse estágio se este não encontrar condições ambientais favoráveis ao seu recrutamento, ele morre. Por outro lado, se este encontrar um ambiente favorável ao seu recrutamento, ele passa por um período de rápido crescimento até atingir por volta dos 20 cm de DAP.

A espécie apresenta distribuição agregada, com grande concentração de indivíduos próximos da planta-mãe. Do mesmo modo, foi detectada autocorrelação espacial positiva significativa para os indivíduos distantes até 19 m. Esse índice aponta uma tendência de que os indivíduos mais próximos sejam aparentados, apresentado estruturação familiar.

Foi estimada uma alta diversidade genética para a espécie, porém foram detectados altos níveis de endogamia. Esses altos níveis de endogamia encontrados para a população analisada devem ser decorrentes da estrutura familiar e de fluxo gênico restrito.

Os maiores índices de fixação e de percentual de indivíduos completamente homozigotos dos indivíduos jovens em relação aos adultos sugerem que a espécie apresenta autocompatibilidade e sistema reprodutivo com cruzamentos mistos.

Alguns aspectos merecem estudos específicos para um entendimento mais consistentes da autoecologia da espécie, em especial a caracterização dos vetores de dispersão e polinização, a caracterização do sistema reprodutivo e das taxas de

cruzamento, uma ampliação de observações dos eventos fenológicos e o acompanhamento a longo prazo da dinâmica demográfica da espécie.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem afirmar que *O. porosa* precisa de grandes áreas para sua efetiva conservação, assegurando que um número suficiente de demes estejam presentes na área assim como garantindo o estabelecimento e manutenção de populações de vetores de fluxo gênico e apresentando vários micro-ambientes que são necessários para o recrutamento dos indivíduos jovens da espécie.

9- REFERÊNCIAS

- Alfenas, A. C., 1998. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV. 574p.
- Alfenas, A.C.; Peters, I.; Brune, W. & Passador, G.C. (eds), 1991. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa:UFV. 242 p.
- Armesto, J. J., Mitchell, J. D. & Villagran, C., 1986. A comparison of spatial patterns of trees in some tropical and temperate forests. **Biotropica** 18:1-12.
- Backes, P. & Irgang, B., 2002. **Árvores do sul – guia de identificação & interesse ecológico**. 1ª edição, Instituto Souza Cruz, 326 p.
- Bawa, K.S. & Seidler, R., 1998. Natural forest management and conservation of biodiversity in tropical forests. **Conservation Biology**. 12(1): 46-55.
- Bencke, S.C. & Morellato, L.P.C., 2002. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. **Revista Brasileira de Botânica** 25(3): 269-275.
- Bittencourt, R.; Mariot, A.; Mantovani, A.; Ferreira, D.K. & Reis, M.S., Genetic diversity in natural populations of *Ocotea porosa* (Lauraceae) in the Atlantic Rain Forest. Em preparação.
- Caldato, S.L.; Longhi, S.J. & Floss, P.A., 1999. Estrutura populacional de *Ocotea porosa* (Lauraceae) em uma Floresta Ombrófila Mista, em Caçador (SC). **Ciência Florestal** 9(1): 89-101.
- Canalez, G.G.; Dalla Corte, A.P. & Sanquetta, C.R., 2006. Dinâmica da estrutura da comunidade de lauráceas no período 1995-2004 em uma Floresta de araucária no Sul do Estado do Paraná, Brasil. **Ciência Florestal** 16(4): 357-367.
- Carvalho, P.E.R., 1994. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**: 377-382. Colombo, EMBRAPA-CNPQ.

Clark, P.J. & Evans, F.C., 1954. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. **Ecology** 35: 445-453.

Clarke, G.M. & Young, A.G., 2000. Introduction: genetics, demography and the conservation of fragmented populations. In: Young, A.G. & Clarke, G.M. (ed) **Genetics, demography and viability of fragmented populations**. Cambridge University Press.

Condit, R.; Ashton, P.S.; Baker, P.; Bunyavejchewin, S.; Gunatilleke, S.; Gunatilleke, N.; Hubbell, S.P.; Foster, R.B.; Itoh, A.; LaFrankie, J.V.; Lee, H.S.; Losos, E.; Manokaran, N.; Sukumar, R. & Yamakura, T., 2000. Spatial patterns in the distribution of tropical tree species. **Science** 288: 1414-1418.

Da Croce, D. M., 1991. **Caracterização espacial estrutural e fotossociológica da Reserva Genética Florestal de Caçador-SC, através da análise de componentes principais e sistemas de informações geográficas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 120 p.

De Luca, A.Q., 2002. **Fenologia, potencial germinativo e taxa de cruzamento de uma população de paineira (*Chorisia speciosa* St. Hil. Bombacaceae) em uma área ciliar implantada**. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP. 84 p.

Degen, B.; Petit, R.; Kremer, A., 2001. SGS – Spatial Genetic Software: a computer program for analysis of spatial genetic and phenotypic structures of individuals and populations. **Journal of Heredity** 92: 447-448.

Epperson, B. K. 1989. Spatial patterns of genetic variation within plant populations. In: A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler, & B. S. Weir (eds). **Plant population genetics, breeding, and genetic resources**. Sinauer: Sunderland, MA. Pp. 229–253.

Epperson, B.K., 2000. Spatial genetic structure and non-equilibrium demographics within plant populations. **Plant Species Biology** 15: 269-279.

Epperson, B.K., 2004. Multilocus estimation of genetic structure within populations. **Theoretical Population Biology** 65: 227-237.

Filho, L.E.M.; Somner, G.V. & Peixoto, A.L., 1992. **Centuria plantarum brasiliensium exstintionis minitata**. Sociedade Brasileira de Botânica, 167 p.

Formento, S.; Schorn, L.A. & Ramos, R.A.B., 2004. Dinâmica estrutural arbórea de uma Floresta Ombrófila Mista em Campo Belo do Sul, SC. **Cerne** 10(2): 196-212.

Fournier, L.A. & Charpantier, C., 1975. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. **Turrialba** 25:45-48.

Fournier, L.A., 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. **Turrialba** 24: 422-423.

Fournier, L.A. 1976. El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento fenológico de los árboles. **Turrialba** 26 (1): 96-97.

Francisco, M.R. & Galetti, M., 2002. Aves como potenciais dispersoras de *Ocotea pulchella* Mart. (Lauraceae) numa área de vegetação de cerrado do sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica** 25(1): 11-17.

Fundação Sos Mata Atlântica/Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, 1998. **Atlas da Evolução dos Remanescentes Florestais e Ecossistemas Associados do Domínio da Mata Atlântica no Período 1990-1995**.

Gilbert, G.S., 2002. Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. **Annual Review Phytopathol** 40: 13-43.

Giulietti, A.M.; Harley, R.M.; De Queiroz, L.P.; Wanderley, M.G.L. & Van Den Berg, C., 2005. Biodiversity and Conservation of Plants in Brazil. **Conservation Biology** 19(3): 632–639.

Guerra, M.P.; Silveira, V.; Reis, M.S. & Schneider, L., 2002. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: Simões, L.L.; Lino, C.F. (org.) **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. São Paulo: Editora SENAC, p. 85-101.

Hamrick, J.L. & Godt, M.J.W., 1989. Allozyme diversity in plant species. In: Brown, A.H.D.; Clegg, M.T.; Kahler, A.L.E.; & Weir, B.S. (eds.) **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer, MA. Pp.43-63.

Hamrick, J.L.; Godt, M.J.W. & Sherman-Broyles, S.L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forests** 6:95-124.

Inoue, M.T.; Roderjan, C.V.; Kuniyoshi, Y.S., 1984. **Projeto Madeira do Paraná**. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 260 p.

Kageyama, P.Y.; Cunha, G.C.; Barreto, K.D.; Gandara, F.B.; Camargo, F.R.A. & Sebben, A.M., 2003. Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). **Scientia Forestalis** 64: 108-119.

Kageyama, P.Y.; Gandara, F.B. & Souza, L.M.I., 1998. Consequências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF** 12(32): 65-70.

Kjær, E.D.; Graudal, L., 2000. Genetic studies of interest for forest genetic resource conservation programmes in tropical countries. In: **SAFORGEN Regional Training Workshop on the Conservation and Sustainable Use of Forest Genetic Resources in Eastern and Southern Africa**, Nairobi, Kenya.

Klein, R.M., 1963. Observações e considerações sobre a vegetação do nordeste catarinense. **Sellowia** 15: 39-56

Klein, R.M., 1978 **Flora ilustrada catarinense: mapa fitogeográfico do Estado de Santa Catarina**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, V Parte - mapa fitogeográfico. 24p.

Krügell, M.M.; Burger, M.I. & Alves, M.A., 2006. Frugivoria por aves em *Nectandra megapotamica* (Lauraceae) em uma área de Floresta Estacional Decidual no Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Sér. Zool** 96(1):17-24.

Lamprecht, H., 1990. **Silvicultura nos trópicos**. Eschborn: Mc Graw Hill. 343 p.

Lewis, P.O. & Zaykin, D. **Genetic Data Analysis**: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). Disponível em: <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>

Li, C.C. & Horvitz, D.G., 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. **American journal of human genetics** 5: 107-117.

Longhi, S. J., 1980. **A estrutura de uma floresta natural de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze., no Sul do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 198 p.

Mantovani, A., 2003. **Fenologia reprodutiva e estrutura genética de uma população natural de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae)**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, Rio Claro, SP. 106.

Mantovani, M.; Ruschel, A.R.; Reis, M.S.; Puchalski, A. & Nodari, R.O., 2003. Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em uma formação secundária da Floresta Atlântica. **Revista Árvore** 27(4): 451-458.

Marquis, R. J., 1988 Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: causes and consequences. **Ecology** 69(5): 1552-1565.

Mariot, A.; Di Stasi, L.C. & Reis, M.S., 2002. Genetic diversity in natural populations of *Piper cernuum*. **The Journal of Heredity** 93: 365-369.

Marques, M.C.M. & Oliveira, P.E.A.M., 2004. Fenologia de espécies do dossel e do sub-bosque de duas Florestas de Restinga na Ilha do Mel, sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 27(4): 713-723.

Mittermeier, R.A.; Da Fonseca, G.A.B.; Rylands, A.B. & Brandon, K., 2005. A Brief History of Biodiversity Conservation in Brazil. **Conservation Biology** 19(3): 601-607.

Moraes, P.L.R. & Monteiro, R., 2002. Taxas de cruzamento em uma população natural de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Biota Neotropica** 2(2).

- Moraes, P.L.R.; Monteiro, R. & Vencovsky, R., 2004 Estrutura genética intrapopulacional em *Cryptocarya moschata* Ness (Lauraceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27(3): 475-487.
- Moraes, P.L.R.; Derbyshire, M.T.V.C., 2002. Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. **Biota Neotropica** 2(2) .
- Moraes, P.L.R.; Monteiro, R. & Vencovsky, R., 1999. Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Ness (Lauraceae) na Mata Atlântica do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica** 22(2): 237-248.
- Morellato, L.P.C.; Talora, D.C.; Takahasi, A; Bencke, C.C., Romera, E.C. & Ziparro, B., 2000. Phenology of Atlantic Rain Forest trees: a comparative study. **Biotropica** 32(4b): 811-823.
- Morellato, L. P. C., 1995. As estações do ano na floresta. In: Leitão Filho & H.F. E Morellato, L.P.C. (Orgs.). **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra**. Campinas: UNICAMP. p.187-192.
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Da Fonseca, G.A.B. & Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853-858.
- Neel, M.C. & Ellstrand, N.C., 2003. Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae). **Conservation Genetics** 4: 337-352.
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA** 70(12): 3321-3323.
- Newton, A.C., Allnutt, T.R., Gillies, A.C.M., Lowe, A.J. & Ennos, R.A. 1999., Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. **Trends in Ecology and Evolution** 14:140-145.
- Oyama, K., 1993. Conservation biology of tropical trees: demographic and genetic considerations. **Environment Update** 1: 17-32.

Reis, A.; Fantini, A.C.; Reis, M.S.; Guerra, M.P. & Doebeli, G., 1992. Aspectos sobre a conservação da biodiversidade e o manejo da floresta tropical atlântica. In: Congresso Nacional Sobre Essências Nativas, 2., 1992, **Anais...** p.169-173.

Reis, M.S., 1996. Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas. **Revista Brasileira de Genética** 19(4): 37-47.

Reitz, R.; Klein, R.M. & Reis, A., 1978. Projeto Madeira de Santa Catarina. **Sellowia** 28-30: 1-320.

Rizzini, C.T., 1971. **Árvores e madeiras úteis do Brasil – Manual de dendrologia brasileira**. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 296 p.

Sakai, A.K. & Oden, N.L., 1983. Spatial pattern of sex expression in silver maple (*Acer saccharium* L.): Morisita index and spatial autocorrelation. **American Naturalist** 122: 489-508.

Sanquetta, C.R.; Pizzatto, W.; Netto, S.P.; Eisefeld, R.L. & Filho, A.F., 2001. Dinâmica da estrutura horizontal de um fragmento de Floresta Ombrófila Mista no Centro-Cul do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais** 3(1): 43-57.

Santos, D.L. & Takaki, M., 2005. Fenologia de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) na região rural de Itirapina, SP, Brasil. **Acta bot. bras.** 19(3): 625-632.

Schaaf, L.B.; Filho, A.F.; Galvão, F. & Sanquetta, C.R., 2006. Alteração na estrutura diamétrica de uma Floresta Ombrófila Mista no período entre 1979 e 2001. **Revista Árvore** 30(2): 283-295.

Sebbenn, A.M., 2006. Sistemas de reprodução em espécies tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: Higa, A.R. & Silva, L.D. (org) **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF. 266 p.

Sokal, R. R. & N. L. Oden. 1978. Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. **Biol. Linn. Soc.** 10:199–228.

Sokal, R.R. & Wartenberg, D.E., 1983. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. **Genetics** 105:219-237.

Spathelf, P.; Fleig, F.D.; Vaccaro, S. & Esber, L.M., 2000. Análise dendroecológica de *Ocotea pulchella* Nees et Mart. ex Nees (canela lageana) na Serra Geral de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Florestal** 10(1): 95-108.

Stephenson, A. G., 1981 Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. **Annual Review of Ecology and Systematics** 12: 253-279.

Swofford, D.L.; Selander, R.B., 1997. **Byosys-2: A computer program for the analysis of allelic variation in genetics**. University of Illinois.

Tarazi, R., 2006. **Caracterização da estrutura genética e conservação de populações naturais de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez.) na Estado de Santa Catarina**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 114 p.

Thrall, P.H.; Burdon, J.J. & Murray, B.R. The metapopulation paradigm: a fragmented view of conservation biology. In: Young, A.G. & Clarke, G.M. (eds.) **Genetics, demography and viability of fragmented populations**. Cambridge University Press, 2000.